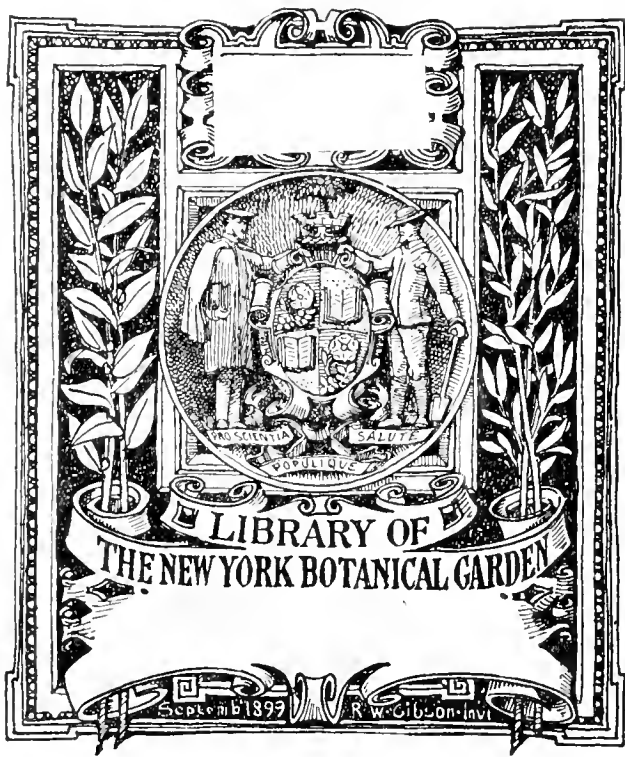


OK601
.P82

Pulst

—
—

Die Widerstandsfähigkeit
einiger Schimmelpilze
gegen Metallgifte







581.1
P96

Die Widerstandsfähigkeit einiger Schimmelpilze gegen Metallgifte

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT

DER

UNIVERSITÄT LEIPZIG

VORGELEGT VON

CARL PULST

AUS BERLIN

Mit 2 Textfiguren

Leipzig

Gebrüder Borntraeger

1902



Die Widerstandsfähigkeit
einiger Schimmelpilze gegen Metallgifte

INAUGURAL - DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT

DER

UNIVERSITÄT LEIPZIG

VORGELEGT VON

CARL PULST

AUS BERLIN

Mit 2 Textfiguren

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN

Leipzig

Gebrüder Borntraeger

1902

1000

LIBRARY
BIOLOGICAL

Vita.

Geboren am 14. Juli 1868 zu Berlin als Sohn des Apothekenbesitzers Carl Pulst ebendasselbst, erhielt ich, Carl Pulst, evangelischen Glaubens, meine Gymnasialbildung auf dem dortigen Collège royal français und dem Königlichen Gymnasium zu Freienwalde a. O., welches ich nach 2 $\frac{1}{2}$ jährigem Besuche der Prima verliess, um mich dem pharmaceutischen Berufe zu widmen. Nach der praktischen Ausbildung bezog ich nacheinander die Universitäten Berlin und Leipzig, an welcher letzteren ich im Mai 1898 die Staatsprüfung als Apotheker bestand und mich in der Folge besonders botanisch-physiologischen Studien widmete.

Während meiner Studienzeit in Berlin besuchte ich die Vorlesungen und Practica der Herren Professoren Engler, Fischer, Warburg und Thoms — in Leipzig diejenigen der Herren Professoren Pfeffer, Wislicenus, Wiedemann, Wiener, Böhm und Beckmann.

Allen meinen hochverehrten Lehrern spreche ich am Abschlusse meiner Universitätsstudien meinen aufrichtigen Dank aus.

JAN 19 1926

Es ist lange bekannt, dass manche Organismen sowohl des Thier- wie des Pflanzenreiches gegen Stoffe organischer und anorganischer Natur, welche wir wegen der tödtlichen Wirkung verhältnissmässig kleiner Mengen schlechtlin als Gifte bezeichnen, sehr widerstandsfähig sind¹⁾.

Diese Thatsache ist allerdings gemäss den Angaben der alten Literatur auch für die höher organisirten Vertreter des Pflanzenreiches in mehr oder minder hohem Grade festgestellt worden²⁾, sie tritt aber in höherem Maasse bei den niederen Pflanzen, den Bakterien³⁾ und ganz besonders bei den Schimmelpilzen⁴⁾ in die Erscheinung.

1) Loew, Giftwirkungen p. 21 und 32.

2) Nöbbe, Samenkunde 1876, physiol. Th. p. 273; Haberland, Landw. Centrallbl. 1874, p. 353; Vogel sen., Verhandl. d. VIII. Vers. deutsch. Naturf. u. Aerzte zu Heidelberg 1829; Sigmund, Landw. Versuchsstat. 1896; Kahlenberg und True, Ref. in d. Zeitschr. f. physikal. Chemie 1897, Bd. XXII; Heubl, Ref. ebenda; Coupin, Compt. rend. hebdom. des séances de l'Acad. des sciences, Tom. CXXVII, No. 1, 1898, p. 499.

3) Dienckhoff, Biolog. Centrallbl. 1895, Bd. XV, p. 499; Paul und Krönig „Die chem. Grundlagen d. Lehre von d. Desinfect.“ Zeitschr. f. Hygiene und Inf.-Krankh., Bd. XXV; Brefeld, Untersuchung über Spaltpilze 1878, p. 11.

4) Seynes, Centrallbl. f. Bakteriöl. 1896, p. 749; dass., Botan. Centrallbl. 1896, I, Bd. 16, p. 157; Pfeiffer, Pflanzenphysiol., Bd. II, § 98 und p. 151; Clark, Journ. of Physic. Chemistry 1899, Bd. III, p. 263 - 316; Stevens, Botanical Gazette vol. XXVI, 1898, II, p. 499; Trabut, Bullet. de la Soc. botan. de France 1895, T. 12, p. 33; Gosio, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., 1897, p. 1024.

Die Wirkung, welche die im Nährboden gebotenen Gifte auf den Organismus ausüben, wird sich naturgemäss — wie das besonders in den citirten Arbeiten von Paul und Krönig Berücksichtigung findet — in zweierlei Weise bemerkbar machen: das Gift des Substrates wird entweder die Entwicklung des Pilzes hemmen beziehungsweise verhindern oder aber die Entwicklungsfähigkeit desselben gänzlich vernichten, d. h. eine tödtliche Wirkung ausüben.

Anlehnend an alle diese Erfahrungen, die in der älteren und neueren Literatur ihren Ausdruck finden, und diejenigen über die Aufnahme der Metalle, welche in dem Capitel über die entbehrlichen Aschenbestandtheile von Pfeffer¹⁾ zusammengestellt sind, hatte ich es mir zur Aufgabe gemacht, einige Versuche mit den vier Schimmelpilzen, *Mucor mucedo*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* und *Penicillium glaucum*, anzustellen, um ihre Resistenz gegen einige Metallgifte festzustellen und miteinander zu vergleichen. Diese Feststellung der Resistenz sollte sich lediglich auf die Möglichkeit einer Entwicklung der genannten Pilze auf dem das jeweilige Metallgift enthaltenden Nährboden erstrecken ohne wesentliche Berücksichtigung der direct tödtlichen Wirkungen der Metallgifte. Es konnten somit nur diejenigen Concentrationen als Grenzkonzentrationen in Frage kommen, welche die Entwicklung der Pilze zu verhindern geeignet sind, ohne dieselbe durch Vernichtung des Lebens unbedingt unmöglich zu machen.

Wie aber einem animalischen Organismus erfahrungsgemäss die andauernde Gewöhnung an denselben, unter normalen Bedingungen schädlichen Stoff eine grössere Resistenz verleiht, so musste bei der Feststellung der Wachstumsgrenzen obiger vier Pilze auch dieser Factor der Accommodation berücksichtigt werden.

Eine solche Accommodation aber konnte sowohl von dem Versuchsobject selbst durch zeitlich lange Berührung mit dem Giftstoff, solange dieser nicht tödtlich wirkte, erreicht werden, als auch auf einer stufenweisen Zunahme von Generation zu Generation beruhen. Immerhin war es für das Ziel meiner Arbeit nothwendig, vorerst für das jeweilige Metallgift die Grenzkonzentration für die Entwicklung der Sporen eines in keiner Weise accommodirten Pilzes, also einer giftfreien Kultur, zu bestimmen, um dann in entsprechenden Parallelversuchen mit den Sporen eines ein oder

1) Pfeffer, Pflanzenphysiol. 1897, § 75.

mehrere Generationen hindurch an den Giftstoff gewöhnten Pilzes zu ermitteln, ob die Resistenz gegenüber dem hemmenden Medium sich dadurch vergrössert hatte, und welcher Art diese Anpassung seitens des Pilzes ist.

Wenn aber dies der Fall und damit die entwickelungshemmende Eigenschaft der Metallsalze je nach dem Grade der Accommodation des Pilzes eine bedingte ist, so kann einerseits die Frage entstehen, ob diese Anpassung des Pilzes eine für jedes einzelne der gewählten Metallsalze specielle ist¹⁾, oder ob die Anpassung desselben an das eine Gift ihm auch eine erhöhte Resistenz einem anderen gegenüber verleiht. Andererseits aber musste, falls die Erwerbung grösserer Resistenz durch allmähliche Anpassung dargethan war, die Frage nach der Dauer dieser Eigenschaft aufgeworfen werden: erwies sie sich als eine vorübergehende oder war sie zu einer bleibenden geworden, sodass man geneigt sein könnte, von einer Vererbung zu sprechen?

Diese Punkte umfassen somit den Haupttheil meiner Arbeiten, welchen ich schliesslich noch einige Versuche anschloss, die auf das Ziel losstern, einen Einblick in die Ursache der verhältnissmässig grossen Resistenz eines *Penicillium glaucum* gegenüber diesen Metallgiften, insonderheit dem Kupfer, zu gewinnen.

Methodisches.

Meine Untersuchungen über das Wachsthum der obigen vier Schimmelpilze erstreckten sich auf folgende Metallsalze:

1. CuSO_4 ,

$\text{Na}_2\text{Cu}(\text{C}_1\text{O}_3\text{H}_2)$ als Parallelversuch!

2. ZnSO_4 ,

3. NiSO_4 ,

denen ich bei weiteren Versuchen mit *Penicillium glaucum* noch folgende acht Salze anschloss:

MnSO_4

Ti_2SO_4

$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$

$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

CdSO_4

HgC_2

CoSO_4

HgCl_2

Wie ersichtlich, wählte ich der Einheitlichkeit wegen im allgemeinen die schwefelsauren Verbindungen der Metalle. Die

1) Pfeffer, Pflanzenphysiologie, 1. Aufl., Bd. II, § 98.

weinsaure Verbindung des Kupfers, welche als Complexverbindung mit weinsaurem Natrium in weinsaurer Lösung verwendet wurde, wählte ich als Parallelversuch zur Wirkung des Kupfers als solehem; ebenso liessen chemisch-physikalische Gründe die Wahl des Quecksilbercyanides neben dem Chloride erwünscht erscheinen.

Dass das Blei nicht in seiner schwefelsauren Verbindung, sondern als Nitrat zur Verwendung kam, hat in der nahezu völligen Unlöslichkeit der ersteren seinen natürlichen Grund.

Bei der Anordnung meiner Versuche standen mir nun zwei Wege offen: Die mikroskopische Beobachtung, wie sie Clark und Stevens¹⁾ wählten, und die makroskopische. Da es aber in dem ersten Theile meiner Versuche nur darauf ankam, die Grenzconcentrationen für die Entwicklung auf dem betreffenden Metallgift, also die Wachstumsgrenzen ohne eingehende Berücksichtigung der Todesgrenzen festzustellen, so genügte einmal die makroskopische Methode; für den Hauptzweck derselben aber, für die Erledigung der Accommodationsfrage, war sie geboten. Denn zum Beweise der Anpassungsfähigkeit war es in der Hauptsache nöthig, die Sporen der auf solchen Gift-Nährböden kultivirten Pilze zu verwenden; mithin musste bei den jeweiligen Versuchen die Fructificationsperiode stets erreicht werden. Mit Berücksichtigung dieser Nothwendigkeit wurden somit meine gesammten Versuche makroskopisch in Flaschenkulturen angestellt.

Herstellung der Kulturen.

Bei der Herstellung der die Metallsalze enthaltenden Nährlösungen kam es naturgemäss darauf an, vergleichbare Concentrationen zu schaffen. Die völlige Identität des Nährstoffgehaltes aber vorausgesetzt, konnten solche analogen Concentrationen nach chemisch-physikalischen Gesetzen nicht durch Lösungen von gleichem Gehalt an Gewichtsprocenten, sondern nur durch äquimolekulare Lösungen erreicht werden.

Allerdings ist, wenn durch diese Methode eine correcte Vergleichung der entwicklungshemmenden Wirkung der Metallsalze als Gifte auch ermöglicht wird, der Factor des osmotischen Einflusses nicht berücksichtigt; jedoch ist derselbe bei den schwachen Concentrationen der Lösungen, welche zur Feststellung der Ent-

1) siehe p. 1.

wicklungsgrenzen gewöhnlicher Pilzsporen zunächst in der Mehrzahl in Frage kamen. völlig ohne Belang. Bei stärkeren Concentrationen wird der osmotische Druck allerdings die Entwicklung auf der Gifflösung zwar nicht relativ im Sinne des Giftes, so doch zeitlich beeinflussen. Im späteren Verlaufe meiner Arbeiten habe ich daher an unbedingt erforderlicher Stelle durch einen entsprechenden Zusatz eines indifferenten Stoffes bei geringeren Giftconcentrationen diesem retardirenden Einflusse Rechnung getragen.

Da ich nun wegen der bis zur Fructificationsperiode gehenden Entwicklung der Pilze naturgemäss mit Nährlösungen arbeiten musste, so möchte ich gleich an dieser Stelle bemerken, dass in meiner Darlegung unter dem Ausdruck „Kupfer-, Nickelsulfatlösung“ n. s. l. insonderheit stets eine Nährlösung von dem entsprechend angegebenen Gehalt an Metallgift verstanden ist.

Nährlösung.

Bei der Herstellung der Nährlösung war es neben den oben erwähnten Forderungen für die Erledigung der gestellten Fragen unbedingt von Werth, den zur Verwendung kommenden Pilzen möglichst günstige Ernährungsbedingungen zu bieten; andererseits aber musste Einheitlichkeit und Gleichheit hinsichtlich des Nährmediums, der Temperatur und des Lichtes herrschen. In Berücksichtigung dieser Punkte und der chemischen Forderungen wählte ich eine Nährlösung von folgender Zusammensetzung, welche somit bei allen meinen Versuchen zur Verwendung kam und für sämtliche Resultate maassgebend ist:

Rohrzucker	40,0	g
Pepton	5,0	„
Monokaliumphosphat	1,035	„
Kaliumnitrat	0,13	„
Magnesiumsulfat	0,16	„

Diese Salze waren in soviel destillirtem Wasser gelöst, dass die Gesamtmenge 1000 ccm betrug.

Ich möchte gleich hier erwähnen, dass ich diese Nährlösung aus praktischen Gründen stets in doppelter Stärke herstellte, d. h. so, dass in 1000 ccm die einzelnen Stoffe (Zucker, Pepton und Mineralsalze) in der doppelten Menge, als oben angegeben ist, gelöst wurden, sodass beim Gebrauch stets das gleiche Quantum destillirten Wassers hinzugefügt werden musste.

Diese Verdoppelung des Gehaltes an Nährstoffen geschah deswegen, weil es vortheilhafter, oft sogar aus chemischen Rücksichten unerlässlich war, das betreffende Metallgift für sich allein unter Erwärmen in destillirtem Wasser zu lösen und diese Lösung nach dem Erkalten mit der Nährlösung zu vereinigen.

Die concentrirte Nährlösung wurde in sterilisirtem Zustande vorrätthig gehalten.

Die Metallgift enthaltenden Nährlösungen.

Zu sämtlichen Versuchen wählte ich Erlenmeyer'sche Kochflaschen von etwa 125 ccm Inhalt. Diese wurden vor dem jedesmaligen Gebrauche mit Salzsäure gut gereinigt, um etwa an der inneren Glaswandung anhaftende, vom vorhergehenden Versuche zurückgebliebene Spuren von Metalloxyden völlig zu entfernen, und dann mit destillirtem Wasser sorgfältig nachgespült; die so gereinigten Gefäße wurden endlich mit gut schliessenden Wattestopfen versehen und darauf bei 100° C. sterilisirt.

Bei der Anstellung der Versuche wurden nun der Controlle wegen stets mindestens je zwei Parallelkulturen angesetzt, und zwar wurden diese sämtlich so hergestellt, dass jede der beiden Flaschen mit je 20 ccm Metallgift enthaltender Nährlüssigkeit beschickt wurde. Zur Herstellung derselben wurde die dieser Gesamttlüssigkeitsmenge von 40 ccm entsprechende Menge des krystallisirten Metallsalzes in Grammmolekülen abgewogen, für sich in destillirtem Wasser — eventuell unter Erwärmen — gelöst, diese Lösung im Messcylinder durch Zusatz von destillirtem Wasser auf 20 ccm aufgefüllt und nach dem Erkalten mit 20 ccm der concentrirten Nährlösung vermischt. Diese Metallgift enthaltende Nährlösung wurde nunmehr auf zwei sterilisirte Flaschen gleichmässig zu je 20 ccm vertheilt, und dieselben mit einer entsprechenden Marke an der Aussenwand versehen, welche die Standhöhe zur Zeit der Impfung angab.

Diese Art der Herstellung der Gesamtlösung für je zwei Parallelkulturen wählte ich einmal aus praktischen Rücksichten, dann aber vor allem, um in diesen Parallelkulturen in jeder Beziehung völlig gleiche Bedingungen zu erzielen.

Da beim Erwärmen der Metallgift enthaltenden Nährlösungen durch chemische Einwirkungen theilweise Fällungen auftraten, so nahm ich das Sterilisiren erforderlichen Falles getrennt vor, indem

die 20 ccm der wässerigen Metallsalzlösung für sich sterilisirt und nach dem Erkalten mit der entsprechenden Vorsicht mit den 20 ccm der sterilen, concentrirten Nährlösung vermischt wurden.

Die bei den stark verdünnten Lösungen des Quecksilberchlorides dennoch in Folge der Nährsalze auftretenden Fällungen konnte ich durch ganz geringe Zusätze von sehr verdünnter Salzsäure wieder in Lösung bringen.

Impfung.

Die in der beschriebenen Weise hergestellten Nährmedien wurden nun mittelst einer sterilen Platinnadel so geimpft, dass mit einer Platinöse eine grössere Menge von Sporen übertragen wurde. Da beim Vergleichen die Menge der jedesmal geimpften Sporen bei lediglich makroskopischer Beobachtung insoweit einen Einfluss auf die Beurtheilung der Entwicklung hat, als beispielsweise 100 Sporen sich — *ceteris paribus* — schneller zu einer Decke entwickeln werden als etwa 10 derselben, so hielt ich es für angezeigt, stets eine grössere Menge zu übertragen. Wenn dadurch auch ebensowenig eine völlige Gleichheit erreicht werden konnte, so wurde der relative Unterschied in der Menge bei einer grösseren Anzahl von Sporen dennoch erheblich herabgemindert und damit eine vergleichende Beurtheilung möglich.

Die so geimpften Kulturen wurden alsdann der Einheitlichkeit wegen ausnahmslos dauernd im Dunkelschrank in einem Zimmer mit constanten Temperaturen¹⁾ bei einer Temperatur von 26° bis 28° C. gehalten.

Erklärung der Tabellen.

Nach dieser Beschreibung meiner Versuchsanordnungen möchte ich zur leichteren Uebersicht ein Beispiel des von mir für sämtliche Tabellen angewendeten Schemas geben (siehe folg. Seite).

In dieser Tabelle giebt die Verticalreihe I den abgerundeten Gehalt in Procenten und zwar a) an reinem Metalle, b) an krystallisirtem Salze an; in der Verticalreihe II bezeichnet die Zahl jeweilig die Anzahl der Liter, in welchen ein Grammolekül des Salzes gelöst ist, sodass im Verlaufe der Arbeit der Kürze halber

1) Pfeffer, Ber. I. Deutsch. botan. Gesellsch. 1895, p. 49.

Penicillium glaucum.

NiSO ₄ Mol.-Gew. = 154,7.		+ 6 H ₂ O Mol.-Gew. = 262,7.				
Procentgehalt		Anzahl d. Lit., in denen 1 Gr. Mol. gelöst ist	Pflzsporen von	Sichtbare	Decke	Fructification
Ni	NiSO ₄ + 6 H ₂ O			Keimung		
0,03	0,13	200	Reinkultur	nach 4 Tagen	nach 8 Tagen	nach 21 Tagen
0,3	1,3	20		" 21 "	" 2 Monat	nach 2 1/2 Monat
0,6	2,62	10		nach 2 Monat	" 4 "	" 6 "
1,2	5,25	5		0	—	—
a)	b)					
I		II	III	IV	V	VI

mit dem Ausdruck „Concentration von 5 etc. Litern“ stets eine Nährlösung gemeint ist, welche in 5 etc. Litern ein Grammmolekül des Salzes gelöst enthält. Die Verticalreihe III giebt an, woher die zur Impfung gelangten Sporen stammten, d. h. ob der Pilz, dessen Sporen verwendet wurden, auf einer Reinkultur oder auf einer bereits Metallgift enthaltenden Nährlösung, deren Concentration dann hier in Litern angegeben ist, kultivirt war. Die Daten der drei letzten Verticalreihen bedürfen einer weiteren Erklärung nur insoweit, als dieselben als Durchschnittswerthe aufgefasst werden müssen; eine 0 bezeichnet hier stets, dass eine Entwicklung überhaupt nicht mehr stattfand.

Nach diesen Erläuterungen über die Art und Anordnung meiner Versuche bin ich nun in der Lage, zur Behandlung derselben selbst überzugehen und an der Hand der aufgestellten Tabellen die Resultate meiner Beobachtungen in Beantwortung der eingangs aufgestellten Fragen mitzutheilen.

I. Welches sind die Concentrationsgrenzen der in Frage kommenden Metallsalze für die Entwicklung der vier Schimmelpilze?

Bei solchen Versuchen, wie die vorliegenden, darf man nicht vergessen, dass bei einer Bestimmung der Wachstumsgrenzen die Resultate nur Annäherungswerthe sein können. Der natürliche Grund liegt darin, dass man in der physiologischen Botanik nicht, wie etwa in der Chemie oder Physik, mit genau berechenbaren und bestimmbareren Factoren arbeitet, sondern es vielmehr mit einem

lebenden Organismus zu thun hat, dessen Lebensfunctionen von vielen Zufälligkeiten abhängig sind. Auch wenn, wie im vorliegenden Falle, nach Möglichkeit die grösste Sorgfalt auf die Herstellung gleicher äusserer Lebensbedingungen verwendet worden ist, so werden dennoch grössere oder kleinere Schwankungen in der Entwicklung und dem Wachsthum des Pilzes unausbleiblich sein; ein Umstand, welcher u. a. schon in der oben erwähnten Art der Impfung eine Erklärung findet.

Aus eben diesen Gründen können auch die von mir gefundenen Werthe für die Wachstumsgrenzen in gewissem Sinne nur für diese bestimmten vorliegenden Verhältnisse Anspruch auf Richtigkeit machen; sie können also in gewissem Sinne nur bedingte Resultate darstellen. Denn jede Veränderung der äusseren Bedingungen — der Nährstoffe, der Temperatur oder dergl. — könnten geeignet sein, zu Abweichungen Veranlassung zu geben.

Ferner ist es bekannt, dass die Sporen der Bakterien¹⁾ in der Regel resistenter gegen Gifte oder sonstige schädliche Einflüsse, wie ultra-maximale oder -minimale Temperaturen und dergl., sind. Somit werden, abgesehen von jenen äusseren Bedingungen, die Resultate noch von dem augenblicklichen Zustande des Organismus, der diesen Einwirkungen ausgesetzt ist, abhängig sein; es wird also darauf ankommen, ob der Pilz sich in der Vegetationsruhe, im Zustande der Keimentwicklung, also des Erwachens aus jener, oder der Weiterentwicklung, also des Wachsthum, befindet. In diesem Sinne habe ich allerdings auch einige Versuche mit den Hyphen der Pilze nebenher angestellt; immerhin aber kam es mir darauf an, die Wachstumsgrenzen der Schimmelpilze unter den obwaltenden Umständen im allgemeinen und nicht vergleichend diejenigen für die einzelnen Stadien festzustellen. Da die Spore die wesentlich resistenter Form ist, so kam sie, wie bereits erwähnt, zur Verwendung, und es verstehen sich daher in sämtlichen Tabellen die Resultate lediglich für Sporenpimpfung.

Nach den Erfahrungen an *Mucor*, *Aspergillus* und *Botrytis* zeigte sich *Penicillium* aussergewöhnlich resistent gegen den Einfluss von Metallgiften, insonderheit des Kupfervitriols²⁾, das sich sonst den Pflanzen gegenüber als ein starkes Gift erweist³⁾. Da sich in Folge

1) Flurze, Mikroorganismen, III. Aufl., Bd. I, p. 151.

2) Loew, Giftwirkungen, p. 36.

3) Nägeli, Oligodynam. Erscheinungen in lebenden Zellen, 1893.

dessen die Versuche mit diesem Pilze sehr viel weiter ausdehnen liessen und im Sinne der Arbeit erfolgreicher gestalteten, so werde ich bis auf einige nothwendige Andeutungen über diese Erfolge mit *Penicillium* die gesammten Resultate der übrigen drei Pilze vorweg behandeln.

Zunächst kam es darauf an, die Wachstumsgrenzen für einen Pilz festzustellen, welcher an das betreffende Gift in keiner Weise gewöhnt war; dementsprechend wurden also zuerst Sporen von giftfreien Reinkulturen zur Impfung verwendet.

Bei meinen diesbezüglichen Versuchen, die sich zunächst nur auf Salze der drei Metalle: Kupfer, Zink und Nickel, erstreckten, stellte sich nun als gemeinsam für sämtliche vier Schimmelpilze — also mit Einschluss des *Penicillium* — nur die n. a. durch die Arbeit von Richards¹⁾ bekannte Thatsache heraus, dass kleine Mengen jener Metallgifte eine Wachstumsvermehrung veranlassten, eine geringe Zunahme derselben aber schon hemmend wirkte. Denn ein nur mässiges Uebersteigen der Concentration, welche den Beschlemigungsreiz ausübte, liess bald — wenn auch nicht bei *Penicillium*, der sich, wie gesagt, als sehr resistent erwies, so doch bei den anderen — durch die Zeitunterschiede eine deutliche Entwicklungshemmung, und eine nur geringe weitere Erhöhung des Metallzusatzes ein völliges Ausbleiben des Wachsthum erkennen.

Die folgende Tabelle, welche einen Auszug aus den im Anhang gegebenen ausführlichen Tabellen der Tab. I darstellt, gibt zum leichteren Vergleich der Resistenz dieser drei Schimmelpilze die Grenzwerte der Concentrationen für die Möglichkeit der Entwicklung und Fructification.

1 Gramm- molekül gelöst	<i>Mucor mucedo</i>		<i>Aspergillus niger</i>		<i>Botrytis cinerea</i>	
	Ent- wicklung	Fructi- fication	Ent- wicklung	Fructi- fication	Ent- wicklung	Fructi- fication
CuSO ₄	in 2000 l	in 20 000 l	in 2000 l	in 2000 l	in 2000 l	in 2000 l
(CuO, O ₂ , H ₂)	„ 200 „	„ 1000 „	„ 10 „	„ 10 „	„ 10 „	„ 10 „
ZnSO ₄	„ 2000 „	„ 20 000 „	„ 200 „	„ 200 „	„ 200 „	„ 200 „
NiSO ₄	„ 2000 „	„ 20 000 „	„ 2000 „	„ 2000 „	„ 2000 „	„ 2000 „

Abgesehen von der relativ geringen Resistenz des *Mucor* im allgemeinen, die bei einer näheren Betrachtung der eingehenderen

1) Richards, Jahrb. f. wiss. Botan., Bd. XXX, 1897: „Ueber die Beeinflussung durch chem. Reize.“

Tabellen durch die Zeitunterschiede — da die retardirende Nebenwirkung des osmotischen Druckes bei solchen Verdünnungen belanglos ist — noch deutlicher erkennbar wird, kennzeichnet sich dieselbe den andern beiden Pilzen gegenüber ganz erheblich in dem Unterschiede der Concentrationsgrenzen für die Fructification. Nach den Resultaten der eingehenderen Tabellen der Tab. I konnte die Keimung der Sporen der drei Pilze sowie ihre Entwicklung zu einer Decke beziehungsweise einer Insel — abgesehen von dem Verhalten des *Aspergillus* gegenüber dem Zinksulfat — bei einer Concentration von 20 000 Litern im allgemeinen als normal bezeichnet werden: die Zeiträume hingegen, welche bis zur Fructification gebraucht wurden, lassen schon bei dieser schwachen Concentration auf einen hemmenden Einfluss der Metallgüte für den Organismus der Pilze schliessen. Es schien in dieser Concentration der Uebergang von einer vortheilhaften zu einer nachtheiligen Beeinflussung durch chemische Agentien zu liegen. Denn schon die nächste Erhöhung derselben um das Zehnfache liess ihre ausgesprochen hemmende Wirkung erkennen, welche bei dem empfindlichsten der drei Pilze, dem *Mucor*, schon ein völliges Ausbleiben der Fructification zur Folge hatte. Eine weitere Verdoppelung des Metallsalzgehaltes, also eine Concentration von 1000 Litern, machte dann schon jede Entwicklung auf diesen Giftmedien — wenigstens für *Mucor* — unmöglich, während diese Grenze für die beiden andern etwas höher lag.

Ausser für *Mucor* fiel diese entwickelungshemmende Concentrationsgrenze mit der letalen nicht zusammen, da diese Sporen nach wochenlanger Incubation in dem Giftmedium dennoch bei vorsichtiger Uebertragung in gifffreie Nährlösung mit wenigen Ausnahmen die erhaltene Entwicklungsfähigkeit zeigten.

Es erübrigt nun noch, bevor ich zur Betrachtung der Versuche mit dem weinsauren Kupferoxydnatrium übergehe, auf die auffallend grössere Resistenz des *Aspergillus niger* gegenüber dem Zinksulfate hinzuweisen, eine Beobachtung, über welche bereits Raulin¹⁾ einige Angaben macht.

Eine Concentration von 2000 Litern, welche bei *Botrytis* schon eine zeitlich deutliche Hemmung in allen drei Phasen, bei *Mucor* aber bereits das gänzliche Ausbleiben der Fructification verursacht, schien bei *Aspergillus niger* ein absolut normales, hinsichtlich der

1) Raulin, Annal. des sciences natur., 1896, ser. V, Botanique 11, p. 93.

Hyphenstärke fast günstiges Wachsthum zu bewirken. Auch bei der zehnfach stärkeren Concentration ist der analoge Unterschied dem *Botrytis* gegenüber noch deutlich erkennbar.

Anschliessend an die immerhin geringe Resistenz dieser drei Schimmelpilze gegenüber der Einwirkung dieser drei Metallsalze habe ich entsprechende Versuche mit einer solchen Verbindung gemacht, in welcher das Kupfer nicht als solches allein, sondern als Complex auftritt: und zwar eignete sich dazu besonders das weinsäure Kupferoxydnatrium. Die Lösungen wurden auf die Weise hergestellt, dass analog dem angegebenen Verfahren die entsprechende Menge des in Wasser wenig löslichen weinsäuren Kupferoxydes unter Zusatz von Natronlauge gelöst, und nach der Vereinigung mit der Nährlösung die Gesamtmenge mittelst Weinsäure schwach angesäuert wurde.

Interessant war nun die Beobachtung, welche in der Arbeit von Paul & Krönig¹⁾ eingehende Berücksichtigung findet, dass auch gegenüber allen drei Schimmelpilzen — wie das auch relativ bei *Penicillium glaucum* hervortritt und dort eingehender erwähnt werden wird — die entwicklungshemmende bezw. tödtliche Giftwirkung des Kupfermetalles, dessen Wirkung besonders einigen höheren Pflanzen gegenüber bekannt ist²⁾, in dieser Complexverbindung ganz bedeutend vermindert wird.

Für *Mucor* lag die Grenzconcentration hinsichtlich des Kupfergehaltes um das Fünffache höher als beim CuSO_4 . *Aspergillus* und *Botrytis*, deren Entwicklung auf einer Kupfersulfatlösung bei etwa 1000 Litern ihre Grenze erreicht hatte, zeigten für die Complexverbindung noch bei 10 Litern ein als absolut normal zu bezeichnendes Wachsthum, welches erst bei 5 Litern gänzlich ausblieb.

Allerdings zeigt sich auch hier dieselbe Abstufung in der Resistenz dieser drei Pilze; immerhin aber sind die Concentrationsgrenzen für die Entwicklung und das Wachsthum, also diejenigen Concentrationen, welche das Wachsthum verhindern, doch ganz erheblich hinaufgerückt.

Nebenbei sei hier bemerkt, dass bei diesen letzten Versuchen mit *Aspergillus* die Beobachtung von Wehmer³⁾ über die Bildung

1) Paul & Krönig, l. c.

2) Nach Nägeli, Oligodynam. Erscheinungen in lebend. Zellen, 1893, tödtete noch ein Theil Kupfer auf 1000 Millionen Theile Wassers einen einzelnen Faden von *Spirogyra*.

3) Wehmer, Botan. Ztg. 1891, p. 233.

von Oxalsäure als Stoffwechselproduct dieses Pilzes in der Abscheidung gut ausgebildeter rhombischer, blauer Krystallnadeln von unlöslichem Kupferoxalat ihre Bestätigung fand.

Nach der Feststellung dieser Wachstumsgrenzen für die Pilzsporen giftfreier Kulturen musste sich an das Ergebniss die schon erwähnte Frage anschliessen, auf welche ich bei Gelegenheit der Versuche mit *Penicillium* näher eingehen werde, nämlich: ob diese somit dargethane, relativ geringe Resistenz sich durch allmähliche Gewöhnung an das Gift, also durch Accommodation, vergrössern lässt.

Nach Erfahrungen an *Penicillium glaucum*, wo die Wirkung der Accommodation in hohem Maasse bemerkbar wurde, war, wenn auch nicht in demselben Grade, eine Stärkung der Resistenz auch bei diesen andern drei Pilzen allerdings zu erwarten. In der That aber war — wie bei gewöhnlichen Sporen von *Penicillium* schliesslich im Laufe einer sehr langen Incubationszeit von 4 Monaten¹⁾ eine Accommodation des Individuums selbst bemerkbar wurde — bei jenen einmal die Wirkung dieses Vorganges nicht festzustellen; zum andern ergaben aber meine Versuche trotz mehrfacher Umpfungen auf demselben Giftmedium so geringe Unterschiede in den Grenzwerten für die Entwicklung und die Fructification, dass es mir unnöthig erscheint, die näheren Daten anzugeben, sofern sie überhaupt darauf Anspruch machen können, als ausschliessliche Resultate einer Accommodationswirkung zu gelten. Ich glaube mich auf die Mittheilung meiner dabei gewonnenen Vermuthung beschränken zu können, dass auch, wie anzunehmen ist, die Möglichkeit einer Anpassung und damit einer Steigerung der Resistenz für diese drei Schimmelpilze vorzuliegen scheint, dass es aber kaum gelingen wird, die oben gefundenen Maximalwerthe für die Wachstumsgrenzen um das zehnfache zu erhöhen.

II. Versuche mit *Penicillium glaucum*.

Viel resistenter als die drei vorhergehenden Schimmelpilze hat sich nun *Penicillium* erwiesen. Und zwar scheint gerade die Art *Penicillium „glaucum“* diese Eigenschaft so grosser Resistenz gegen Metallgifte, insonderheit gegen Kupfersalze, zu besitzen. Allerdings habe ich Impfungen mit andern Arten dieser Gattung nicht angestellt;

1) Vergl. p. 17 und die Tabellen der Tab. I.

aus dem Umstande aber, dass die spontane Infection mittelhoch- und hochconcentrirter Kupfersulfat-Nährlösungen, welche ich öfters an verschiedenen, geeigneten Orten — sich selbst überlassen — lange Zeit aufgestellt hatte, stets nur die Entwicklung eines *Penicillium* erkennen liess, welcher mit dem *Penicillium glaucum* identisch zu sein schien, — aus diesem immer sich wiederholenden Umstande glaube ich schliessen zu dürfen, dass andere Arten dieser Gattung nicht diese Widerstandsfähigkeit oder wenigstens nicht das Anpassungsvermögen in so hohem Maasse besitzen, welches schliesslich diese Art doch befähigte, auf so hochconcentrirten Lösungen der Metallgifte zu gedeihen.

Wenn ich nun wiederum vorerst im Hinblick auf die Wachstumsgrenzen eines Pilzes von giftfreier Kultur die Resultate sämtlicher diesbezüglicher Tabellen der Tab. I kurz zusammenfasse, so muss man hinsichtlich der hemmenden Wirkung der Salze auf die Entwicklung dieses Pilzes die in folgender Tabelle angegebene Reihenfolge aufstellen, in welcher die Zahlen diejenigen Concentrationen angeben, welche als Grenzen noch die Entwicklung und Fructification des Pilzes zulassen.

1 Grammolekül	Entwicklung		Fructification	
	in	0,4 Litern	in	0,4 Litern
MnSO ₄	"	0,75	"	0,75
ZnSO ₄	"	0,75	"	0,75
CuSO ₄	"	5	"	5
Fe ₂ (SO ₄) ₃	"	5	"	5
Pb(NO ₃) ₂	"	10	"	200
NiSO ₄	"	100	"	10
CdSO ₄	"	100	"	100
CoSO ₄	"	100	"	100
HgCy ₂	"	500	"	500
HgCl ₂	"	2000	"	2000
Tl ₂ SO ₄	"	2000	"	10000

Diese Anordnung der Salze — deren Anzahl ich für die Versuche mit *Penicillium*, wie vorher erwähnt, noch um acht weitere vermehrt habe — nach ihrer entwicklungshemmenden Wirkung gilt, wohl bemerkt, für die Sporen eines Pilzes von giftfreier Kultur, und zwar stimmt dieselbe im wesentlichen mit der von Clark¹⁾ angegebenen, wenn auch nicht bezüglich der Höhe der Concen-

1) Clark, l. c.

trationen, so doch des Grades der charakteristischen Giftwirkung der Metalle überein.

Wenden wir nun im Anschluss an diese Anordnung der Salze unsere Betrachtung den eingehenderen Tabellen der Tab. I zu, so erscheint:

das Mangansulfat ($MnSO_4$) dem Wachsthum des *Penicillium glaucum* gegenüber in seinem Charakter als Gift im engeren Sinne völlig wirkungslos. Bis zu der Concentration von 5 Litern war das Wachsthum als absolut normal zu bezeichnen: von der Concentration von 2 Litern an war allerdings die Zeit bis zu einer makroskopisch deutlich sichtbaren Keimung eine etwas längere, während mit Ausnahme der gesättigten Lösung von 0.4 Litern die Dauer bis zur Fructification constant blieb. Die Pilzdecken selbst waren, nachdem das Auskeimen einmal begonnen hatte, in kurzer Zeit kräftig und liessen keinerlei benachtheiligende Einwirkungen durch das Salz als Gift erkennen.

Dass der Pilz in seiner Entwicklungsperiode bei so hohen Concentrationen und besonders bei der höchsten, der gesättigten Lösung, eine so gewaltige, zeitliche Hemmung erfährt, kann — wiewohl auch bei diesem im engeren Sinne ungiftigen Salze eine gewisse Zeit zur Anpassung an dies aussergewöhnliche Medium nothwendig sein wird — immerhin wohl der giftigen Wirkung des Metallsalzes allein nicht zugeschrieben werden. Vielmehr darf man nicht vergessen, den mit jeder Concentrationserhöhung steigenden osmotischen Druck in Erwägung zu ziehen, welchen die Pilzsporen zu überwinden gezwungen waren, und der selbst ebenfalls eine gewisse Anpassungszeit erfordert.

Hinsichtlich dieses Momentes ist zu beachten, dass beispielsweise der osmotische Druck einer gesättigten Mangansulfatlösung mindestens, also ohne Berücksichtigung der durch molekulare Dissociation bedingten, nicht unerheblichen Druckerhöhung, demjenigen einer Rohrzuckerlösung von 86—90 „, d. h. etwa 62 Atm. (— 15 „ KNO_3 -Lösung) entspricht.

Dem Zinksulfat ($ZnSO_4$) kommt erfahrungsgemäss eine sehr starke desinfectirende Wirkung zu: um so mehr muss man über die Concentrationen erstaunt sein, auf welcher *Penicillium glaucum* sich zu entwickeln noch im Stande war. Bei der schwachen Lösung von 2000 Litern liess sich die bereits erwähnte Begünstigung des Wachsthums durch chemischen Reiz in einer starken Hyphenentwicklung deutlich erkennen; bei der zehnfach stärkeren Concen-

tration machte sich, wenn auch noch in geringem Grade, eine entwicklungshemmende Einwirkung sowohl in der Zeitdauer als in einer weniger normalen Art und Stärke des Wachsthum's bemerkbar. Bei einer weiteren Erhöhung der Concentration blieb dann bis zu einer solchen von 2 Litern die Zeit bis zur Keimung zwar verlängert, aber constant, während die Weiterentwicklung zu einer festen, zusammenhängenden Decke, sowie besonders die Fructificationsperiode zeitlich eine bedeutende, progressive Verzögerung erfuhr, welche in den noch höheren Concentrationen, zumal in Folge der Mitwirkung der osmotischen Drucksteigerung, sich noch ganz gewaltig vergrösserte. Immerhin war das Wachstum des Pilzes auf diesem Giftmedium dennoch bis zur höchsten Concentration möglich.

In Berücksichtigung jener Thatsache nun, dass hier die Sporen des Pilzes z. Th. nicht sofort, sondern erst nach 4 Wochen, bezw. 2 Monaten auskeimten, sich dann aber bis zur Fructification entwickelten, kann man ohne weiteres die Annahme nicht zurückdrängen, dass, solange das äussere Medium nicht sofort abtödtend in den Organismus eingreift, vor dem Auskeimen eine allmähliche Anpassung der Spore an dasselbe stattfindet. Denn wäre dieses nicht der Fall, wäre nicht eine gewisse, mit jeder Erhöhung des Giftgehaltes wachsende Zeitdauer zu solcher Adaptation erforderlich, und würde diese Zeit hier nicht zur Erlangung dieses Zieles nothwendiger Weise verbraucht, so wäre wohl der Grund dafür nicht einzusehen, dass jene Sporen nicht — wenn überhaupt einmal — sofort zur Auskeimung gelangten, sondern vielmehr erst nach einer so aussergewöhnlich langen Incubationszeit, welche kaum allein in der Ueberwindung des hohen osmotischen Druckes ihre Erklärung finden kann. Nach den in dieser Hinsicht gemachten Erfahrungen haben ja auch Lösungen indifferenten Stoffe, wenn auch zeitlich nicht in demselben Maasse, einen gleichen Effect. Es liegt somit also hier eine Accommodation des Individuums selbst und zwar an das Gift vor, eine Fähigkeit, welche gerade dem *Penicillium glaucum* den andern Schimmelpilzen gegenüber in hohem Maasse eigen zu sein scheint und ihm auf solchen Giftmedien, wo jene — ohne getödtet zu sein — versagten, noch eine Weiterentwicklung ermöglicht.

Diese Beobachtung zieht sich durch sämtliche Versuche, welche mit Sporen einer giftfreien Kultur auch bezüglich der andern Metallgifte, vor allem mit dem Kupfersulfat, angestellt wurden.

Für die Kulturen auf der Zinksulfatlösung war die intensiv gelbe Färbung der unteren Seite der Hyphendecke charakteristisch, während die Conidien und auch die Sporen schneeweiss blieben.

Wie schon eingangs erwähnt, konnte Trabut¹⁾ noch auf einer 9% Kupfervitriol (CuSO_4) enthaltenden Nährlösung eine Entwicklung und Fructification von *Penicillium glaucum* beobachten, eine Concentration, welche auch Clark²⁾ als Wachstumsgrenze angiebt. In meinen Versuchen, die allerdings unter anderen Ernährungsbedingungen stattfanden, wurden diese Grenzen ganz erheblich übertroffen. Es vergrösserten sich allerdings, analog dem Verhalten des Pilzes gegen das Zinksulfat, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, die Zeiträume bis zum Erscheinen einer makroskopisch wahrnehmbaren Keimung, einer Decke und der Fructification besonders in den hohen Concentrationen ganz bedeutend, und machte sich auch hier der entwickelungshemmende Einfluss des Kupfersalzes, der durch Anpassung überwunden werden musste, sowohl dadurch als auch an der schwachen Hyphenentwicklung und dem theilweisen Auftreten krauser, welliger Decken stark bemerkbar. Immerhin aber erreichte der Pilz auch hier, selbst auf einer gesättigten Lösung, wenn auch erst nach 5 Monaten, die Reifeperiode, und zwar traten auf den hohen Concentrationen die Sporenträger wieder in der gewöhnlichen weissgrauen Färbung auf, während dieselbe besonders bei sehr verdünnten Lösungen dieses Salzes eine schwach röthliche war.

Analog den Versuchen mit den vorher behandelten Pilzen habe ich auch mit diesem solche bezüglich seines Verhaltens gegenüber dem Kupfer in der complexen Verbindung des weinsauren Kupferoxydnatriums ($\text{Na}_2\text{Cu C}_4\text{O}_6\text{H}_2$) angestellt und zwar mit dem gleichen Erfolge. Entsprechend der grossen Resistenz dieses Pilzes gegen das Kupfer erfahren hier bei diesem Doppelsalz die Zeiträume der einzelnen Phasen ganz erhebliche Verkürzungen, besonders in den höchsten Concentrationen, wo ohnedies noch die gewaltige osmotische Druckerhöhung als besonders ungünstiges Moment zu berücksichtigen ist. Eine höhere Grenzconcentration als diejenige von 1 Liter war wegen der dann stattfindenden Abscheidung von Kupferoxydal nicht erreichbar. Gegenüber diesen Resultaten geht die Resistenz des *Penicillium*

1) l. c.

2) l. c.

glauca gegen den entwickelungshemmenden Einfluss der andern noch zu behandelnden Metallsalze, welche allerdings ebenso wie die vorhergehenden in sehr geringen Mengen einen das Wachstum begünstigenden Reiz ausübten, ganz erheblich zurück.

Das schwefelsaure Eisenoxyd ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) verhinderte bei einer Concentration von 4 Litern bereits jegliche Entwicklung des Pilzes auch nach wochenlanger Incubation der Sporen; nur bei einer Lösung von 5 Litern war dieselbe noch möglich, doch zeigte sich hier wie schon bei einer solchen von 10 Litern der wachstumswidrige Einfluss des Salzes in der sehr schwachen und anomalen Weiterentwicklung der Hyphen ausserordentlich deutlich.

Ähnlich waren die Erfolge mit dem salpetersauren Blei ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$), wo das Auskeimen der Sporen zwar noch bei einer Concentration von 20 bis zu 5 Litern aufwärts — allerdings erst nach 2—3 Wochen — möglich war, und eine Weiterentwicklung zu kleinen kugeligen, submers wachsenden Hyphengebilden deutlich sichtbar wurde; eine Decke aber und die Sporenbildung kam nur noch bei einer Verdünnung von 200 Litern zu Stande.

Die Entwicklung des Pilzes auf einer Nickelsulfatlösung (NiSO_4) glich im allgemeinen bis zu einer Concentration von 20 Litern derjenigen auf dem Kupfersulfat; bei den stärkeren Concentrationen jedoch zeigte das Metallsalz sehr bald, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, seinen für das Wachstum des Pilzes nachtheiligeren Charakter. Allerdings war noch bei einer Concentration von 10 Litern eine Entwicklung bis zur Reife möglich, doch war dieselbe eine ebenso langsame wie kümmerliche; den Einfluss einer Concentration von 5 Litern waren die Pilzsporen, ohne getödtet zu werden, dennoch durch Anpassung an das Gift nicht mehr im Stande, zu überwinden.

Relativ noch weniger resistent erwies sich der Pilz gegenüber den schwefelsauren Salzen des Cadmium und Cobalt (CdSO_4 und CoSO_4)¹⁾; und zwar kann ich wegen der Analogie der Resultate meine Wahrnehmungen für beide Salze dahin zusammenfassen, dass die Entwicklung des Pilzes, besonders im ersten Stadium, bei einer Concentration von 200 Litern im allgemeinen noch eine relativ

1) Nach Saussure (Recherch. chimiq. 1804, p. 208) und Boussingault (Agronom. etc. 1868, Bd. IV), p. 300) ist Co für die Pflanzen auch in grosser Menge sehr untergeordnet giftig.

gute zu nennen war. Bei einer Concentration von 100 Litern wuchsen allerdings sowohl die Zeiträume, die zur Anpassung an das Gift gebraucht wurden, als auch die Mangelhaftigkeit der Hyphenbildung schon ganz gewaltig; und bereits mit einer Lösung von 50 Litern — also 0,65% des krystallisirten Salzes — war die Grenzconcentration, welche also jede Entwicklung auf diesem Medium verhinderte, erreicht.

Wie zu erwarten war, konnte die Widerstandsfähigkeit des Pilzes gegen die Wirkung der beiden als höchst giftig bekannten Quecksilbersalze, des Cyanides und des Chlorides (HgCy_2 und HgCl_2), hohe Grenzen nicht erreichen. Allerdings war die entwicklungshemmende Wirkung der Cyanverbindung der des Chlorides gegenüber eine gemilderte. Denn während eine Sublimatlösung von 1000 Litern jede Entwicklung auch nach langer Incubation verhinderte¹⁾, setzte das Cyanid dem Wachsthum des Pilzes erst bei einer Concentration von 200 Litern die Grenze, ein Wirkungsunterschied, der wohl in dem verschiedenen Grade der molekularen Dissociation, auf deren vermuthlichen Einfluss ich noch später zurückkomme, seine Erklärung findet.

Die relativ geringste Resistenz zeigte der Pilz gegenüber dem Thalliumsulfat (Tl_2SO_4), dessen tödtender Wirkung für Algen auch von Loew²⁾ gedacht wird. Während auf einer Concentration von 2000 Litern zwar noch eine Entwicklung bis zu schmalen Inselstreifen, die aber die Reifeperiode nicht erreichen konnten, möglich war, wurde eine solche auf einer Lösung von 1000 Litern durch den Einfluss des Giftes auch nach wochenlanger Incubation völlig verhindert.

Bei allen diesen Angaben über die Grenze des Wachsthums unter dem Einfluss der verschiedenen Salze wäre es nicht zutreffend, die jeweils in Frage kommenden Grenzconcentrationen auch zugleich als letale, d. h. diejenigen zu bezeichnen, welche ein Absterben der Sporen bewirken, ein Fall, welchen auch Nägeli³⁾ hinsichtlich der Bakterien für Carbol- und Salicylsäure bei der Gährthätigkeit feststellte. Vielmehr hat sich, wie bei den vorhergehenden mit wenigen Ausnahmen, so auch bei *Penicillium glaucum* — mit Ausschluss der Versuche mit Sublimat, das sehr bald die

1) Loew, Giftwirkungen, p. 35 u. 53.

2) Loew, Giftwirkungen, p. 37.

3) Nägeli, Die niederen Pilze, 1877, p. 27, 205 u. s. w.

Sporen tödtete. — durch entsprechendes vorsichtiges Ueberimpfen auf gifffreie Nährlösung die im Falle einer Nichtentwicklung auf der Gifflösung dennoch erhaltene Keimfähigkeit der Sporen fast überall nachweisen lassen. Es lag somit also im allgemeinen bei den gefundenen Concentrationsgrenzen für das Wachstum der Pilze zunächst nur eine entwickelungshemmende Wirkung der Gifte vor. Ob diese in entsprechender Concentration bezw. nach entsprechender Einwirkungsdauer schliesslich, wie allerdings anzunehmen wäre, in eine tödtende übergeht, und wie hoch diese Concentrationsgrenzen liegen, diese Frage genauer zu untersuchen, lag ausserhalb des Rahmens meiner Arbeit.

Ich möchte nur noch beifügen, dass gegenüber der resistenten Dauerform, der Spore, in einigen Parallelkulturen, welche ich zu diesem Zwecke mit den Hyphen von *Penicillium glaucum* in analoger Weise auf Kupfersulfatlösungen anstellte, diese letzteren sich als ungleich empfindlicher erwiesen¹⁾.

Im Rückblick auf diese gesammten Erfolge mit *Penicillium glaucum* muss man zusammenfassend zu dem Urtheil gelangen, dass dieser Schimmelpilz sich zwar gegenüber dem Thalliumsulfat und den beiden Quecksilbersalzen nach den gemachten Erfahrungen im Verhältniss zu anderen pflanzlichen Organismen bezüglich seiner Resistenz nicht erheblich auszeichnet, wohl aber den übrigen Metallgiften gegenüber. Insonderheit ist die ganz aussergewöhnliche Widerstandsfähigkeit gegen das Zink- und das Kupfersulfat, auf deren gesättigten Lösungen die Sporen sogar im Stande waren, sich zu entwickeln, auffallend.

Unschwer knüpft sich daran — besonders in Anlehnung an die Versuche mit den beiden Quecksilber- und Kupfersalzen — die Frage nach der Ursache dieser Verschiedenheit der Wirkung der Salze bei gleichem Metallgehalt auf das Leben des pflanzlichen Organismus. Bei der Beantwortung dieser Frage kann man, gestützt auf die vorliegenden Arbeiten von Clark, Stevens und Paul & Krönig²⁾ wohl geneigt sein, auch für meine Resultate die Erfahrungen über die elektrolytische Dissociation der Moleküle und ihre physiologische Bedeutung erklärend heranzuziehen.

Wie bekannt, erleiden die Metallsalze besonders in wässriger Lösung eine theilweise Spaltung ihrer Moleküle, d. h. elektrolytische

1) Verh. p. 2.

2) l. c. s.

Dissociation; und zwar steigt diese mit der Zunahme der Verdünnung, sodass in unendlicher Verdünnung völlige Dissociation herrscht. In Folge dieses chemisch-physikalischen Vorganges wird die physiologische Wirkung eines solchen Metallsalzes in wässriger Lösung nicht eine einheitliche sein; vielmehr wird sie neben der der geschlossenen noch von derjenigen der dissociirten Moleküle, also der Ione — des Metall- und des Säure-Ion — und zwar je nach dem Grade der Dissociation von der Anzahl dieser activen Ione abhängig sein.

Mit Ausschluss des Bleisalzes, der Quecksilber- und des weinsäuren Kupfersalzes habe ich nur die schwefelsäuren Verbindungen der Metalle in die Versuche hineingezogen. Da stets molekulare Lösungen zur Verwendung kamen, so ist das Anion in den entsprechenden Parallelversuchen qualitativ stets das gleiche.

Das Mangansulfat erschien aber, wie ja auch von den Sulfaten der Alkaligruppe bekannt ist, für die Entwicklung des *Penicillium* den andern Metallsalzen gegenüber als Gift nahezu wirkungslos. Demnach musste, da die Wirkung des Säureions sich qualitativ deckte, bezüglich der andern Salze entweder dem Metall-Ion oder aber dem nicht dissociirten Theile der Sulfate in seiner specifischen Eigenschaft als Gift jeweils der alleinige, oder schliesslich dem activen Metall-Ion eine betheiligte Wirkung zugeschrieben werden.

Ist nun in der That die physiologische Giftwirkung eines Metallsalzes von derjenigen des Metall-Ion und damit von der Dissociation abhängig, so erklärt sich daraus auch unschwer die grössere entwicklungshemmende Eigenschaft des Kupfersulfates gegenüber der weinsäuren Complexverbindung, wie auch des Quecksilberchlorides gegenüber dem Cyanid. Bei dem ersteren stehen sich Kupfer- und Kupfer-Natrium-Ion bei gleichem Kupfergehalt, bei den andern beiden — in Folge grösserer Dissociation des Chlorides — gleichartige active Ionen bei ungleicher Anzahl gegenüber.

Nachdem so durch die Versuche mit den Sporen eines nicht an die betreffenden Gifte gewöhnten Pilzes die Wachstumsgrenzen festgelegt waren, konnte der Frage der Accommodation, zu deren eingehenderen Behandlung sich im Gegensatze zu den drei ersten Schimmelpilzen *Penicillium glaucum* in Folge seiner grossen Widerstandsfähigkeit ganz besonders eignete, näher getreten werden.

Ist *Penicillium glaucum* anpassungsfähig? Welches sind die Wirkungen der Accommodation?

Die Accommodation lebender Organismen an gewisse äussere Bedingungen und Verhältnisse, welche dem Bedürfniss ihrer Natur im allgemeinen nicht entsprechen, ja oft sogar zuwiderlaufen, bezüglich der Temperatur, des Lichtes, der Nahrung oder der Anwesenheit solcher Stoffe, welche man wegen ihrer dem Leben und der Entwicklung entgegenwirkenden Eigenschaften als „Gifte“ bezeichnet, ist eine bekannte Erscheinung. Allmähliche Gewöhnung an solche anomalen Umstände und Stoffe mit stufenweiser Steigerung bewirken erfahrungsgemäss nach und nach oft einen solchen Zustand und Grad des Angepasstseins in den Lebensfunctionen des betreffenden Organismus, dass eine plötzliche Aufhebung bezw. Entfernung dieser im Grunde zwar anomalen Verhältnisse dennoch die Weiterentwicklung desselben nicht nur nicht begünstigen, sondern oftmals — wenigstens eine Zeit lang — nachtheilig beeinflussen kann.

Treffende Beispiele hierfür bieten unter anderen die sog. Arsenikesser, Morphimisten, Cocainisten¹⁾; denn während unter anderem schon 0,1 g arseniger Säure genügt, einen Menschen unter normalen Bedingungen zu tödten, kann bei allmählicher Gewöhnung die vierfache Dosis ohne Schaden ertragen werden²⁾, eine plötzliche Entziehung aber wird, wie bekannt, zumeist eine wenigstens eine Zeit lang andauernde Benachtheiligung des betreffenden Individuums zur Folge haben.

Beim Studium der Entwicklungsgeschichte der organischen Welt kommt man überall auf dieses wichtige Moment der Anpassung zurück, indem sie für die Wandlung ganzer Arten bedeutungsvoll geworden ist.

Dahingehende Versuche sind sowohl im Thier- wie im Pflanzenreiche in mannigfacher und zahlreicher Weise angestellt worden. Aus diesem letzteren Gebiete möchte ich unter anderen der Versuche gedenken, welche in diesem Sinne mit niederen Pilzen und Bakterien von Erëra³⁾, Kossiakoff⁴⁾, Trambusti⁵⁾,

1) Loew, Giftwirkungen.

2) ebenda, p. 20.

3) Erëra, Referat i. d. Botan. Zeitung No. XI (Juni 1899), p. 169.

4) Kossiakoff, „De la propriété que possèdent les microbes de s'accomoder aux milieux antiseptiques“. Annal. d. l'Institut. Pasteur, 1^{er} ann. Octobre 1887.

5) Trambusti, „Contributio sperimentale alle legge dell' adattamento dei microorganismi sui mezzi antisettizi“. Lo Sperimentale XLVI, 1892.

Galeotti¹⁾ und Diendoné²⁾ und zwar sämmtlich mit dem gleichen Erfolge der Erhöhung der Resistenz durch Accommodation gemacht worden sind.

In wie geringem Maasse dennoch diese Wirkung bei den vorerwähnten drei Schimmelpilzen trotz einer allmählichen, in stufenweiser Generationsfolge vorgenommenen Gewöhnung sich äusserte, wurde oben³⁾ bereits gesagt. Nach den Erfahrungen über die resistente Entwicklungsfähigkeit eines *Penicillium glaucum* auf einzelnen Metallgiftlösungen und das damit zusammenhängende, bereits grosse directe Anpassungsvermögen der Sporen einer giftfreien Kultur war aber bei einer Gewöhnung mehrere Generationen hindurch ein im Sinne der Arbeit sehr günstiges Resultat zu erwarten. Allerdings konnte die der Resistenz und Entwicklungsfähigkeit günstige Wirkung solcher Accommodation nicht für alle Metallgifte lediglich durch eine Erweiterung der Wachstumsgrenzen, also durch eine Erhöhung der entsprechenden Grenzconcentrationen sich kenntlich machen, da u. a. bei dem Zink- und Kupfersulfat die höchstmögliche Concentration bereits in den Versuchen mit einem Pilz von giftfreier Kultur erreicht worden war. Dennoch aber konnte sie sich in einer wesentlichen Verkürzung der Zeiträume und einem entsprechend besseren Wachstum äussern, wie dies auch in der That der Fall war.

Bei der Ausführung dieser Accommodationsversuche war, um das Optimum der Resistenz und Entwicklungsfähigkeit auf solchen Giften zu erreichen, der gegebene Weg derjenige, die Concentrationen von Generation zu Generation stufenweise zu erhöhen. Das geschah so, dass die Sporen eines Pilzes, der auf einer schwachen Metallgiftlösung gewachsen war, jeweils auf eine entsprechend höhere Concentration geimpft und die Sporen dieser neuen Kultur wiederum auf die nächst höhere Concentration übertragen wurden.

Die für die Resultate dieser Versuche aufgestellten Tabellen entsprechen in der Anlage im wesentlichen demjenigen des ersten Theiles: sie unterscheiden sich nur dadurch, dass einmal die An-

1) Galeotti, „Ricerche biologiche sopra alcuni batteri cronogeni“, Lo Sperimentale XLVII, 1892.

2) Diendoné, „Beiträge z. Kenntniss der Anpassungsfähigkeit der Bakterien an ursprünglich unanst. Temperaturverhältnisse“, Arb. aus d. kais. Ges.-Amt Bd. IX, 1. Heft, Berlin 1893.

3) Vergl. p. 13.

gaben des Procentgehaltes an reinem Metalle und krystallisirtem Salze fortgelassen sind, zum anderen diejenige Columne, welche anzeigt, von welcher Kultur die geimpften Sporen stammen, einige Erweiterungen erfahren hat. Da hier nicht, wie in den dortigen Versuchen, lediglich Sporen von giftfreier Reinkultur zur Verwendung kamen, so finden sich der oben angegebenen Methode der Impfung entsprechend in der fraglichen Verticalreihe eine oder mehrere Zahlen, welche in absteigender Reihenfolge in Litern die Stärke der Lösungen angeben, auf denen die früheren Generationen nacheinander in aufsteigender Reihenfolge, also mit steigender Concentration, erwachsen sind.

Analog der Anordnung des vorhergehenden Theiles gebe ich vorweg wiederum eine kurze Tabelle, welche parallel zu jener¹⁾ die durch Accommodation erzielte Erweiterung der Grenzwerte für die Möglichkeit der Entwicklung und Fructification des Pilzes und eine damit zusammenhängende Verschiebung in der Reihenfolge der Metallsalze hinsichtlich des Grades ihres entwickelungshemmenden Charakters erkennen lässt.

1 Grammolekül	Entwicklung			Fructification		
	in	0,1 Litern		in	0,1 Litern	
MnSO ₄	"	0,75	"	"	0,75	"
ZnSO ₄	"	0,75	"	"	0,75	"
CuSO ₄	"	1	"	"	2	"
NiSO ₄	"	5	"	"	5	"
Fe ₂ (SO ₄) ₃	"	10	"	"	50	"
CdSO ₄	"	50	"	"	50	"
Cs ₂ SO ₄	"	50	"	"	50	"
HgCy ₂	"	5	"	"	200	"
Pb(NO ₃) ₂	"	1000	"	"	1000	"
Tl ₂ SO ₄	"	2000	"	"	2000	"

Bei den ersten 3 Salzen konnte, wie bereits erwähnt, eine absolut höhere Wachstumsgrenze nicht erreicht werden; anders ist es für die folgenden bei einem Vergleich mit jener Tabelle¹⁾. Das Nickelsulfat rückt vor das Eisensalz, während das Bleinitrat hinter dem zur Accommodation für den Pilz scheinbar geeigneteren Quecksilbercyanid seinen Platz findet; auch das Thalliumsulfat erlaubt im Gegensatz zu dem in der vorigen Tabelle relativ

1) Siehe p. 14.

weniger giftig erscheinenden Quecksilberchlorid eine bessere Anpassung.

Bei näherer Betrachtung der eingehenderen Tabellen der Tab. II werden sich nun folgende Resultate ergeben:

Zunächst machte sich bei den Versuchen mit den ersten 3 Salzen die grosse Accommodationsfähigkeit des Pilzes an das Gift und ihre Wirkung mit Berücksichtigung der osmotischen Verhältnisse dennoch in einer erheblichen Verkürzung der Zeiträume für alle drei gegebenen Phasen und ein sehr viel kräftigeres Wachstum der Hyphen deutlich erkennbar.

Das Mangansulfat ($MnSO_4$) hatte sich gemäss der Versuche mit Sporen einer giftfreien Reinkultur für die Entwicklung derselben in seiner Giftwirkung im engeren Sinne als völlig unschädlich erwiesen. Dementsprechend konnte eine etwaige Wirkung der Gewöhnung an diesen der Natur des Pilzes zwar immerhin mehr oder weniger fremden Stoff doch nicht in dem Maasse wie bei den anderen Salzen zum Ausdruck kommen. Allerdings weisen die einschläglichen Tabellen der Tab. I und II in den hohen Concentrationen Zeitunterschiede auf, doch sind diese verhältnissmässig so geringe, dass der Grund dafür zum grössten Theile in der Anpassung an die osmotischen Druckunterschiede gesucht werden muss.

Bei dem Zink- und dem Kupfersulfat ($ZnSO_4$ und $CuSO_4$) macht sich die schnelle Accommodation des Pilzes an den entwickelungshemmenden Charakter der Gifte, der trotz der hohen Wachstumsgrenzen im ersten Theile der Arbeit immerhin doch vorliegt, schon erheblich mehr bemerkbar.

Bei den Untersuchungen auf dem Zinksalze unterschieden sich die Sporen eines Pilzes, welcher auf einer Concentration von 200 Litern gewachsen war, zwar von solchen einer giftfreien Reinkultur, abgesehen von dem kräftigeren Wachstum der späteren Decke, in der Entwicklung zeitlich nicht. Die Sporen einer Generation zweiten Grades liessen jedoch durch die ganz erheblichen Zeitunterschiede — wie aus der zweiten Horizontalreihe dieser Tabelle hervorgeht — neben der kräftigeren Hyphenentwicklung die Wirkung einer stattgefundenen Anpassung an das Gift als solches deutlich erkennen. Gemäss der Tab. I waren zur Keimung, Deckenbildung und Fructification auf einer Concentration von 2 Litern jeweils 8, 24 und 35 Tage erforderlich, während nach der Tabelle der Tab. II die Sporen eines (5 * 200) accommodirten Pilzes dagegen jeweils nur 2, 3 und 10 Tage gebrauchten.

Allerdings ist bei einer Concentration von 2 Litern der osmotische Druckunterschied, welchen Sporen einer giftfreien Reinkultur gegenüber denen eines auf einer Concentration von 5 Litern kultivirten Pilzes bei der Entwicklung zu überwinden haben, ein nicht unerheblicher; immerhin aber ist die retardirende Wirkung desselben — besonders mit Berücksichtigung der Versuche mit dem Mangansulfat — nicht so gross, dass solche gewaltigen Zeitunterschiede lediglich darin ihren Grund haben könnten; eine wohl berechtigte Annahme, welche auch bei der Beurtheilung der Resultate mit Nickel- und vor allem aber mit dem Kupfersulfat berücksichtigt werden muss.

Analog dem Zinksulfat sind auch bei den Accommodationsversuchen gegenüber dem Kupfersulfat die Resultate der Erwartung entsprechend. Gemäss der einschläglichen Tabelle der Tab. I brauchten die Sporen einer giftfreien Kultur zur Entwicklung auf Concentrationen dieses Salzes von 10, 5 und 2 Litern 21 Tage, auf einer solchen von 1 Liter sogar einen Monat. Ein Vergleich dieser Zeitangaben mit den entsprechenden der Tab. II zeigt deutlich die relativ schnelle und leichte Anpassung des Pilzes an das Kupfergift, indem die obigen Daten hier auf 8, 3 und 5 Tage herabsanken, zudem aber der Zustand des entwickelten Pilzes dieser Kulturen einen durchaus günstigeren Eindruck machte.

Auch für das Nickelsulfat (NiSO_4), welches sich in jenen ersten Versuchen als ein relativ sehr stark entwicklungshemmendes Medium erwiesen hatte, machte sich besonders in den hohen Concentrationen die Anpassungsfähigkeit des Pilzes in hohem Grade bemerkbar. Dies zeigte sich zunächst in der absoluten Erweiterung der Wachstumsgrenzen. Während die Sporen einer giftfreien Kultur (Tab. I) sich nur noch auf einer Concentration von 10 Litern zu entwickeln im Stande waren, zeigten diejenigen eines stufenweise accommodirten Pilzes diese Fähigkeit noch auf einer zehnfach stärkeren, darüber hinaus allerdings nicht mehr.

Ausser dieser absoluten Erweiterung der Concentrationsgrenzen für das Wachstum des Pilzes zeugten aber die Verkürzung der Zeiträume und die kräftigere Hyphenentwicklung durchaus dafür, dass der Organismus sich in seinen Lebensfunctionen entsprechend verändert hatte. Bei Sporen einer giftfreien Kultur war die Entwicklung auf einer Concentration von 10 Litern eine äusserst schwache, während die Sporen des accommodirten Pilzes noch bei einer Concentration von 5 Litern zu einer starken und fructifici-

renden Decke sich entwickelten, und bei einer solchen von 2 Litern zwar nur die Bildung kleiner Inseln, immerhin aber die Fructification beobachtet werden konnte, welche letztere bei der sehr hohen Concentration von 1 Liter erst ausblieb.

Bei dem schwefelsauren Eisenoxyd ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) hatten meine Accommodationsversuche nicht den Erwartungen entsprechende Resultate, indem sowohl die Concentrationsgrenzen wie die Zeitverhältnisse und die Art der Entwicklung annähernd dieselben blieben, ein Umstand, welcher vielleicht in den stark katalytischen Eigenschaften dieses Salzes seinen Grund haben kann.

Das Bleinitrat ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$), welches ich wegen seiner dem Eisensalz analogen Wirkung vorweg nehmen möchte, hatte schon den Sporen einer giffreien Reinkultur gegenüber eine relativ sehr starke entwicklungshemmende Wirkung gezeigt; dieselben keimten zwar noch auf einer Concentration von 5 Litern aus und entwickelten sich hier zu dürftigen, submers wachsenden Hyphenbällen; eine Decke aber und Fructification vermochte der Pilz nur noch auf einer Concentration von 200 Litern zu erreichen. Die Anpassung an den Charakter dieses Salzes schien für den Pilz in Folge jenes hohen Giftigkeitsgrades unmöglich zu sein. Denn obwohl zu diesen Accommodationsversuchen die Sporen jener letzterwähnten Kultur von 200 Litern mehrmals auf dasselbe Medium umgeimpft waren, blieben die Resultate dennoch dieselben. Dass die starke Giftwirkung dieses Salzes hier sich lediglich als eine entwicklungshemmende erwies, welche der Pilz auch nach einer mehrere Generationen hindurch andauernden Gewöhnung nicht zu überwinden im Stande war, erhellt am klarsten daraus, dass jene submersen Hyphen nach vorsichtiger Uebertragung in giffreie Nährlösung sofort eine schnelle Weiterentwicklung zeigten, ein Umstand, welcher von neuem die sehr viel geringere Resistenz der Hyphen gegenüber den Sporen beweist¹⁾.

Für die folgenden Salze bemerkt man nun beim Vergleich der entsprechenden Reihen der Tabellen der Tab. I und II in den Resultaten der Versuche durchweg ein mehr oder minder stark hervortretendes Anpassungsvermögen des Pilzes.

Das schwefelsaure Cadmium (CdSO_4), welches in einer Concentration von 50 Litern die Entwicklung der Sporen einer giffreien Kultur völlig verhinderte, liess dieselbe für diejenigen eines

1) Vergl. p. 29.

accommodirten Pilzes noch auf einer Concentration von 10 Litern zu; beim Kobaltsulfat steigt diese Grenze von einer Concentration von 100 Litern auf diejenige von 50 Litern, also rund auf das Doppelte. In beiden Fällen war allerdings die Entwicklung eine äusserst schwache und erreichte bei dem ersteren der Salze nicht mehr die Reifeperiode in solcher Concentrationshöhe, woraus sich schliessen lässt, dass diese beiden Salze, wie auch in erhöhtem Maasse die folgenden, im Vergleich zu dem Zink- und Kupfersalz gegenüber dem Pilze einen erheblich stärkeren entwicklungshemmenden Charakter besitzen.

Bei den Versuchen mit den beiden Quecksilbersalzen (HgCy_2 und HgCl_2) liessen zwar beide, das Cyanid sowohl in der Erweiterung der Concentrationsgrenze für das Wachsthum von 500 Litern auf 50 Liter — also um das Zehnfache! — als auch in der Abkürzung der Zeiträume, das Chlorid nur in diesem letzten Punkte die erfolgte Accommodation des Pilzes an diese beiden starken Gifte deutlich erkennen; immerhin konnte aber für das letztere wegen seiner eminenten Giftwirkung eine höhere Concentrationsgrenze nicht erreicht werden. Dieses Urtheil über den Grad der entwicklungshemmenden Eigenschaft des Sublimates, die auch nach gemachten Proben hier mit einer letalen Wirkung nahezu zusammenfiel, konnte zwar schon aus den Versuchen mit Sporen einer giffreien Kultur gefällt werden; dennoch blieb es bei diesen Versuchen mit den beiden stark giftigen Verbindungen des Quecksilbers auffallend, dass der Grad der Anpassung an die zwei Salze desselben Metalles seitens des Pilzes nicht entfernt im gleichen Verhältnisse steht. Allerdings schien dies nach den vorher gemachten Erfahrungen und den daraus geschöpften Vermuthungen¹⁾ in der grossen Verschiedenheit des Dissociationsgrades seinen Grund zu haben; nach den Beobachtungen bei Gelegenheit dieser Accommodationsversuche musste mir aber der Grad der Giftigkeit doch von der specifischen Wirkung des nicht dissociirten Theiles abhängig erscheinen. Denn ein Vergleich einer Quecksilbercyanidlösung von 50 Litern mit einer Sublimatlösung von 2000 Litern hinsichtlich der vorhandenen Anzahl activer Hg-Jonen wird zwar nicht die relative, sicherlich aber die absolute Majorität für die erstere der Lösungen ergeben. Beruhete demnach die entwicklungshemmende bzw. tödtliche Wirkung lediglich auf derjenigen der

1) vergl. p. 19 u. 20.

activen Metall-Ionen, so wäre das so erheblich verschiedene Verhalten des Pilzes diesen beiden Concentrationen der beiden Quecksilbersalze gegenüber nicht erklärbar bezw. unbegründet.

Das letzte noch zu erwähnende Salz, das Thalliumsulfat (Tl_2SO_4), musste gemäss den Erfahrungen mit den Sporen von giftreiner Kultur mit dem Sublimat mindestens auf gleiche Stufe gestellt werden; nach den Resultaten dieser letzten Versuche aber schien der Pilz im Vergleich zum Sublimat für dieses Salz ein grösseres Anpassungsvermögen zu besitzen, indem jene Grenze für die Entwicklung um das Doppelte — von einer Concentration von 2000 Litern auf eine solche von 1000 Litern — stieg.

Wenn man nunmehr einen Rückblick auf die gesammten Resultate dieser Accommodationsversuche wirft, so geht aus ihnen als bewiesen hervor, dass ein Schimmelpilz, indem der Organismus sich in seinen Lebensfunctionen an den Charakter des umgebenden Mediums allmählich gewöhnt und diese bis zu einem gewissen Grade zweckentsprechend umgestaltet bezw. ausbildet, durch solche Accommodation sehr wohl befähigt werden kann, durch die erworbene Resistenz ein sehr hohes Maass entwicklungshemmender Einflüsse, wie die vorliegenden Salze im allgemeinen sie besitzen, zu überwinden und damit den Grad der Wirkung solcher Agentien mehr oder weniger, z. Th. ganz erheblich herabzudrücken.

Der natürliche und günstigste Weg zur Erlangung grösserer Resistenz durch Anpassung musste für den Pilz der von mir eingeschlagene sein, d. h. auf dem Uebertragen der Pilzsporen von Generation zu Generation mit stufenweiser Erhöhung der Concentrationen beruhen. Dadurch wurde der Organismus sowohl an den Charakter als auch zugleich progressiv an die Quantität des Giftstoffes und die damit zunehmende absolute Giftwirkung desselben gewöhnt. Immerhin konnte sich nach einigen Beobachtungen, welche ich nebenher machte, daran die Frage knüpfen lassen, ob nicht schon eine lange Gewöhnung an den Charakter desselben allein ohne Berücksichtigung des zweiten Factors, der Quantität also wenn dieselbe viele Generationen hindurch auf niederen Concentrationen fortgeführt wurde —, genügen würde, um dem Pilze für eine Entwicklung auf einer hohen Concentration ohne vorangehende stufenweise Erhöhung bis zu dieser Stärke, wenn nicht eine gleichwerthige, so doch eine annähernd gleiche Resistenz zu verleihen.

In den Tabellen der Tab. II habe ich fast durchgehend zum Vergleiche die Resultate mit Sporen eines Pilzes beigefügt, welcher nur eine Generation hindurch und zwar auf einer verhältnissmässig schwachen Concentration des betreffenden Salzes kultivirt war. Allerdings sind diese wenigen Versuche hier nur beiläufige und ohne nähere Berücksichtigung der osmotischen Druckveränderungen angestellt worden: dennoch aber konnten sie nicht als ganz belanglos gelten.

Bei einigen derselben, z. B. denjenigen mit Nickelsulfat, versagten solche Sporen von geringen Concentrationen bei einem grösseren Sprunge in der Zunahme des Salzgehaltes völlig; bei den Versuchen mit Kupfersulfat aber zeigten die Sporen eines Pilzes, welcher auf einer Concentration von 200 Litern kultivirt war, wie aus der Vergleichstabelle ersichtlich ist, schon nach einer Generation den Sporen einer gutfreien Kultur gegenüber bei einer plötzlichen Erhöhung auf 10 und 5 Liter durch die Abkürzung der Zeiträume eine unverhältnissmässig grosse Zunahme in der Resistenz.

Anzahl der Liter, in denen 1 Grammmolekül gelöst ist	Pilzsporen von	Sichtbare Keimung	Derke	Fructification
10	Reinkultur	nach 21 Tagen	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten
10	200 Lit.	„ 10 „	nach 16 Tagen	nach 18 Tagen
5	Reinkultur	„ 21 „	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten
5	200 Lit.	„ 16 „	nach 21 Tagen	nach 28 Tagen

Um aber diese Frage über den Unterschied einer lediglich auf den Charakter des Giftes gerichteten Accommodation gegenüber einer stufenweise, parallel zur Concentrationssteigerung ansteigenden zu entscheiden, war es nöthig, eingehendere und genauere Versuche anzustellen und vor allem den Einfluss osmotischer Druckunterschiede zu eliminiren, so dass lediglich die Wirkung des Metallgiftes als solches zur Geltung kam, da auch kleine Zeitunterschiede hier bei der Beurtheilung von Wichtigkeit waren. Es musste somit mit isotonischen Lösungen gearbeitet werden; da solche aber auch im weiteren Verlaufe meiner Arbeiten mit Kupfersulfat zur Verwendung kommen mussten, so will ich vorweg noch einige kurze Mittheilungen über die wenigen Versuche geben, welche ich angestellt hatte, um der bereits erwähnten Frage näher zu treten:

Verleiht die durch Accommodation erworbene Resistenz gegen das eine Metallgift dem Pilz auch eine relative Unempfindlichkeit gegen ein anderes?

Zwar war es nicht zu erwarten, dass die durch Accommodation erworbene erhöhte Resistenz bezw. die diese bedingende Veränderung der Lebensfunctionen des Pilzes so allgemeiner Natur sein würden, dass die Sporen eines an ein bestimmtes Metallsalz der gewählten Serie accommodirten Pilzes die dadurch erworbene Eigenschaft grösserer Resistenz für dieses eine auch gegenüber jedem andern Gliede derselben in entsprechender Concentration zeigen würde¹⁾. Immerhin aber konnte diese einmal erworbene Eigenschaft sich mit Rücksicht auf die chemischen Analogien einiger der betreffenden Metallgifte für eine Gruppe als gleichwertig herausstellen.

Um diese Vermuthung zu prüfen, wurden die Versuche in der Weise angestellt, dass Sporen eines auf der einen oder andern Metallsalzlösung mehrere Generationen hindurch kultivirten, an dieses Medium also stark accommodirten, Pilzes auf die gleiche Concentration eines der andern Metallsalze und vice versa übertragen wurden. Da die Concentrationen mit den Ausnahmen, wo die zu impfenden Lösungen wegen ihres Giftigkeitsgrades procentualisch schwächer waren, als molekulare Lösungen die gleiche Stärke besaßen, so konnten zeitliche Verschiebungen in Folge osmotischer Druckunterschiede die Resultate nur wenig oder in jenen Ausnahmefällen nur relativ günstig beeinflussen.

In den gemäss den Resultaten dieser Versuche aufgestellten Tabellen der Tab. III bezeichnen die in der dritten Vertikalreihe befindlichen Angaben einmal das betreffende Salz, an welches der Pilz accommodirt, und die darunter stehende Zahl in Litern jeweils die Höhe der Concentration, auf welcher die letzte Generation kultivirt war. Es sei wohl bemerkt, dass die hier verwendeten Sporen ausnahmslos den entsprechenden Kulturen der Tab. II entstammten, somit also den dort verzeichneten Maximalgrad der Anpassung erreicht hatten.

Vergleicht man nunmehr die Resultate der einzelnen Tabellen dieser Tab. III mit denen der Tab. I und II — ich habe die entsprechenden Daten als Parallelangaben zur leichteren Uebersicht

1) Pfeffer, Pflanzenphysiologie, 1. Aufl., Bd. II, § 98.

in den Tabellen der Tab. III aufgenommen — so wird man finden, dass zwischen der Anpassung des Pilzes an das Kupfer- und Zinksulfat und damit in dem Charakter dieser Salze bezüglich ihrer physiologischen Wirkung gegenüber diesem Pilze eine gewisse Analogie zu herrschen scheint. Dem gegenüber den Sporen einer giftfreien Reinkultur erschienen diejenigen eines an Kupfersulfat accommodirten Pilzes entschieden — auch unter Berücksichtigung der osmotischen Druckverhältnisse — für die Entwicklung auf einer äquimolecularen Zinksulfatlösung geeigneter und vice versa.

Desgleichen zeigten Sporen eines an diese beiden Salze accommodirten Pilzes denjenigen einer giftfreien Kultur gegenüber auch bezüglich der Entwicklung auf Lösungen von Nickel-, Cadmiumsulfat und Quecksilbercyanid eine grössere Resistenz. Hinsichtlich der Weiterentwicklung auf einer Cadmiumsulfatlösung seihen die Anpassung an jene Salze sogar einen günstigeren Effect auf den Pilz gehabt zu haben, als diejenige an das gleiche Metallsalz (CdSO_4), indem die Grenze für die Fructification bei jenen Versuchen — auch in zwei Wiederholungsfällen — zurückblieb, ein Umstand, welcher von den veränderten osmotischen Druckverhältnissen sicherlich völlig unabhängig war.

Mit den Sporen eines an Nickelsulfat accommodirten Pilzes und bei sämmtlichen Versuchen mit Cobaltsulfat konnte ich analoge Resultate, wie die obigen, nicht erzielen. Das Cobalt ist vom chemischen und physikalischen Standpunkt aus betrachtet ein dem Nickel ungemein ähnliches Metall: eine etwaige analoge Verwandtschaft dieser Metalle hinsichtlich ihrer physiologischen Wirkung ist wohl bis jetzt weniger genau studirt worden. Ob eine solche überhaupt besteht, muss dahin gestellt bleiben; für meinen Pilz schien sie jedenfalls nicht vorzuliegen, denn die Sporen eines an das Nickelsulfat immerhin relativ stark accommodirten Pilzes liessen bei einem Austausch dieses Salzes gegen das Cobaltsulfat irgendwelche Anzeichen einer durch Anpassung erworbenen, grösseren Resistenz für dieses letztere in keiner Weise erkennen.

Nach dem Ergebniss dieser gesammten Versuche erscheint zwar, gestützt auf einige Resultate, wie diejenigen mit dem Kupfer- und Zinksulfat, die Möglichkeit der Annahme einer Aehnlichkeit in der physiologischen Einwirkung auf den Organismus des Pilzes für einige Metallsalze nicht ganz unberechtigt; immerhin aber kann man directe Schlüsse auf eine ganz oder theilweis generelle Natur der Accommodation, beziehungsweise der durch dieselbe erworbenen

Eigenschaften, wie sie durch jene Analogie in der physiologischen Wirkung für diese beiden Salze begründet sein könnte, so lange nicht ziehen, bis die Frage durch eingehendere Versuche noch mehr aufgeklärt ist.

Nach diesen Mittheilungen der wenigen, vom eigentlichen Thema meiner Arbeit etwas abschweifenden Versuche, komme ich zu der für die Art der Accommodation wichtige und bereits oben angedeutete Frage zurück:

Wie verhalten sich die Sporen eines mehrere Generationen hindurch auf gleichen schwachen Metallsalzlösungen kultivirten Pilzes gegenüber denen eines stufenweise mit allmählichem Steigen des Salzgehaltes von Generation zu Generation an das Gift accommodirten?

Es war schon aus einigen beiläufigen Versuchen¹⁾ erkennbar geworden, dass mit einigen Ausnahmen die Sporen eines auf einer verhältnissmässig nur schwachen Metallsalzlösung kultivirten Pilzes — am augenfälligsten bei dem Kupfersulfat — sich dennoch ganz unverhältnissmässig besser zur Entwicklung auf einer sehr hohen Concentration gleicher Art — im Vergleich zu den Versuchen eines bis zu jener Grenze stufenweise accommodirten Pilzes — eigneten, als die Sporen einer giftfreien Kultur.

Wenn somit schon die Anpassung an die physiologischen Einwirkungen des Giftes auf den Organismus — also an seine specifischen Eigenschaften für den Pilz, welche ich in diesem Sinne kurz als seinen „Charakter“ bezeichnen möchte —, neben derjenigen an die Quantität und die damit absolut zunehmende Giftwirkung desselben eine so auffallend grosse Rolle in der Frage der Accommodation zu spielen schien, so konnte man nach den gemachten Erfahrungen über die progressive Zunahme der Resistenz mit dem Grade der Generationen wohl vermuthen, dass auch ohne stufenweise Erhöhung der Concentrationen der Pilz auf schwachen Lösungen nach und nach auch einen sehr hohen Grad von Resistenz gegen das Gift, auch in hohen Dosen, erwerben würde.

Weges des umfangreichen Materiales habe ich diese und die zur Erledigung der noch folgenden Fragen angestellten Versuche

1) Vergl. p. 30.

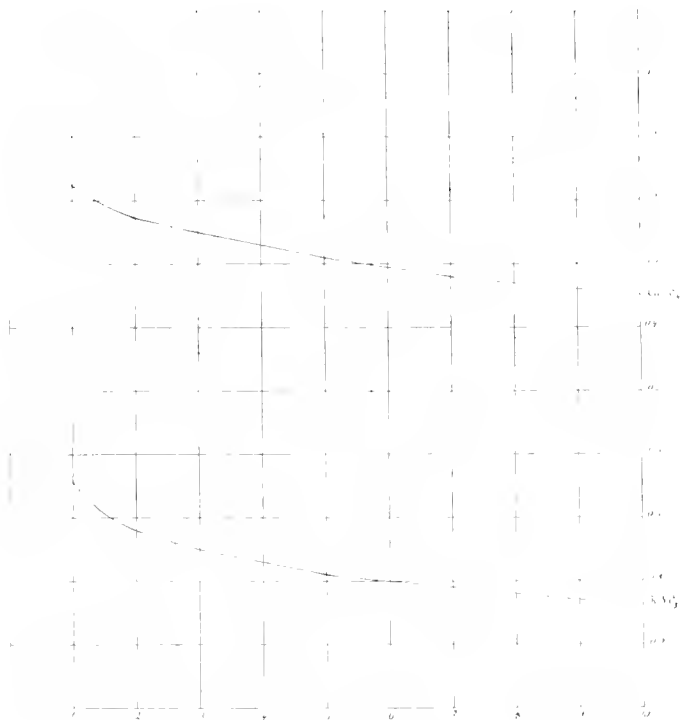
lediglich auf das Kupfersalz beschränkt, zumal ja ohne weiteres wohl angenommen werden kann, dass die Resultate für jedes andere der Salze analoge sein werden.

Zur Erlangung genauer Resultate in den Zeiträumen war es hier, wie bereits erwähnt, vor allem erforderlich, den Einfluss osmotischer Druckunterschiede, die hier auftreten mussten, auf die zeitliche Entwicklung der Sporen, so weit als möglich, zu eliminieren; es musste also mit isotonischen Lösungen gearbeitet werden.

Herstellung der isotonischen Lösungen.

In den zu den weiteren Versuchen der Arbeit notwendigen Lösungen wurde die Uebereinstimmung des osmotischen Druckes

Figur 1.
Dissociationscoefficienten.



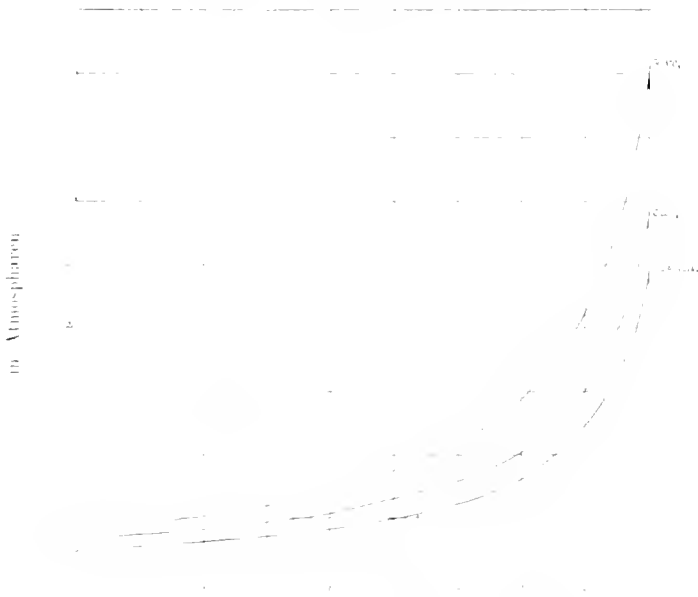
Anzahl der Liter, in denen 1 Gramm-Molekül des Salzes gelöst ist.

dadurch erreicht, dass bei geringem Gehalt an Kupfersulfat (z. B. 200 Liter) der gegenüber einer hohen Concentration dieses Salzes (z. B. 10, 5 oder 2 Liter) bestehende Druckunterschied durch

einen entsprechenden Zusatz des für die Entwicklung des Pilzes indifferenten Salzes, des Kalisalpeters, ausgeglichen wurde. Der osmotische Druck der betreffenden Kupfersulfatlösung war aber nicht allgemein bekannt; ferner aber bot wegen der starken tödtlichen Wirkung dieses Salzes zumal auf höheren Concentrationen¹⁾ einerseits, andererseits in Folge der geringen Grösse der Hyphen des *Penicillium glaucum* eine Bestimmung auf plasmolytischem Wege nicht unerhebliche Schwierigkeiten.

Figur 2.

Osmotische Druckunterschiede.



Anzahl der Liter, in denen 1 Gramm-Molekül gelöst ist

Da nun eine wässrige Kupfersulfat- und Kaliumnitratlösung, wie erfahrungsgemäss auch die der meisten Metallsalze, eine theilweise Dissociation der Moleküle erfahren, und der osmotische Druck mit diesem Vorgange in engem Zusammenhange steht, so ist man in der Lage, aus dem jeweiligen Dissociationscoefficienten solcher Salzlösungen, die durch diesen chemisch-physikalischen Vorgang bedingte Druckerhöhung gegenüber dem bekannten osmotischen

1) Eine 5proc. bzw. 2proc. Kupfersulfatlösung tödtete die Zellen von *Eldonca cavendensis* in wenigen Stunden.

Drucke einer gleich concentrirten Rohrzuckerlösung¹⁾ zu ermitteln²⁾).

Die auf diesem Wege ermittelten Resultate sind durch die betreffenden Curven (p. 35) dargestellt, welcher ich auch noch eine solche für die Dissociationscoefficienten (p. 34), aus welchen jene berechnet wurden, beigefügt habe.

Aus praktischen Gründen habe ich durchgehend für sämtliche Kulturen dieser Versuche den einheitlichen osmotischen Druck einer Kupfersulfatlösung von 2 Litern gewählt. Die Berechnung der erforderlichen Menge des zuzusetzenden Salpeters wird dann für relativ geringere Concentrationen des Kupfersalzes an der Hand der einschläglichen Curve folgendermassen zu machen sein:

Eine Concentration von 200 Litern (CuSO₄) habe ich wegen der sehr geringen Druckerhöhung wie eine kupfersalzfreie Nährlösung behandelt; anders für die Concentration von 10 Litern und 5 Litern!

Gemäss der Curve beträgt:

der osmot. Druck einer Kupfersulfatlösung 2 Lit.	15,16 Atm.
" " " " " "	3,30 "

es wäre also die Differenz von 11,86 Atm. durch den diesem Drucke entsprechenden Zusatz von rund 3^o „ Salpeter auszugleichen.

Allerdings findet bei einer derartigen Combination zweier wässriger Salzlösungen eine theilweise, wechselseitige chemische Umsetzung und dadurch auch eine Veränderung der physikalischen

1) Pfeffer, Pflanzenphysiologie, II. Aufl., 1897, p. 129—128.

2) Berechnung der Curve für den osmot. Druck nach den Tabellen von Kohlrausch und Holborn, „Leitvermögen der Elektrolyte“. Der Dissociationscoefficient für jede beliebige Verdünnung berechnet sich nach den erwähnten Tabellen für das Leitvermögen der Elektrolyte nach der Formel:

$$\alpha = \frac{\text{Leitvermögen bei gewünscht. Verdünnung}}{\text{Leitvermögen bei unendlicher Verdünnung}}$$

Bezeichnet man nun den bekannten osmotischen Druck einer molekularen Rohrzuckerlösung — also eines nicht dissociirten Stoffes — mit P₀, denjenigen der entsprechenden in Frage kommenden Metallsalzlösung mit P_N, so berechnet sich bei gleicher Temperatur

bei 0° C. der osmotische Druck P_N nach der Formel:
$$P_N = P_0 \cdot i \cdot \frac{a}{n}$$
i = absol. Temperatur, d. h.

$P_N = P_0 \cdot i \cdot \frac{273}{273 + t}$ wo die Constante $i = 1 + \alpha (n - 1)$ zu setzen ist, und α hier den Dissociationscoefficienten (siehe die Curve), n aber die Anzahl der activen Ionen bezeichnet.

Verhältnisse statt; doch ist dieselbe nicht so weitgehend, dass sie für die vorliegenden Untersuchungen besondere Berücksichtigung verdient.

Der analogen obigen Berechnung entsprechend bedurfte eine Kupfersulfatlösung von 5 Litern eines Salpeter-Zusatzes von 2,2⁰/₁₀₀, um mit einer solchen von 2 Litern isotonisch zu sein.

Mit solchen in dieser beschriebenen Weise hergestellten isotonischen Lösungen, wie sie für meinen Zweck genügten, wurden nun zunächst die Versuche über die Art der Accommodation und ihre stufenweise Zunahme vorgenommen, welche in den Resultaten der Tab. IV ihren Ausdruck finden.

Dabei stellte sich nun, wie das zu erwarten war, gemäss den Daten der Horizontalreihe 1 und 2 bezw. 5 und 6 heraus, dass bei einer Impfung auf eine Kupfersulfatlösung von 5 bezw. 2 Litern Sporen eines fünf Generationen hindurch auf einer Kupferlösung von 200 Litern kultivirten Pilzes sowohl in der Abkürzung der Zeiträume als auch durch eine kräftigere Entwicklung einen zweifellos höheren Grad der Resistenz, als Accommodationseffect, zeigten als solche von einem Pilze, welcher nur eine Generation hindurch auf dem gleichen Medium (CuSo₄ 200 Lit.) gewachsen war.

Eine Concentrationserhöhung von 200 Litern auf 5 bezw. 2 Liter ist eine ausserordentlich grosse und damit die Erhöhung der Quantität des wirksamen Giftes eine ganz erhebliche; wenn also dennoch eine Zunahme der Resistenz bezw. der Entwicklungsfähigkeit der Sporen auf diesem Giftmedium durch diese Art der Anpassung festgestellt werden konnte, so konnte diese nur durch eine lange anhaltende Gewöhnung ausschliesslich an den „Charakter“ des Giftes erzielt worden sein.

Die weiteren Daten der Tab. IV geben die Resultate einiger Parallelversuche zu den obigen und sollen einen Anhalt für die Beurtheilung jener Art der Accommodation gegenüber einer solchen mit stufenweiser Erhöhung des Giftgehaltes bilden. Wenn nun darnach die Erwerbung grösserer Resistenz auf jenem Wege zweifellos unverkennbar ist, so scheint allerdings dennoch — wie es ja auch den sonstigen Erfahrungen auf anderen Gebieten entspricht — der gleiche bezw. ein besserer Effect in bedeutend kürzerer Zeit durch ein stufenweises Vorgehen (Horizontalreihe 3 und 7) erreichbar zu sein.

Dass bei jener ersten Art der Accommodation durch eine ausserordentliche Vermehrung der Anzahl der Generationen die Resistenz des Pilzes noch erheblich verstärkt werden wird, ist nach diesen Erfahrungen zweifellos anzunehmen; ob der Effect aber schliesslich ein gleicher werden wird, wie bei einem stufenweisen Vorgehen, und damit lediglich die Anpassung an den Charakter des Giftes in Frage kommt, muss bislang noch dahingestellt bleiben.

Immerhin aber wird diesen Erfahrungen gemäss der Maximal-effect der Accommodation durch eine Berücksichtigung beider Factoren gewährleistet sein, wie dies schon an den Resultaten der Horizontalreihen 4 und 8 sich zeigt.

Es wird somit auch in solcher Höhe der Concentration mit der wachsenden Anzahl der Generationen die Widerstandsfähigkeit bezw. der Grad der Accommodation noch ganz erheblich zunehmen, wenn nicht dadurch sogar vielleicht ein gewisser Grad von Bevorzugung dieses Mediums seitens des Pilzes erreicht wird, welcher für denselben das betreffende Gift schliesslich als ein Existenzbedürfniss erscheinen lassen könnte.

Um die Richtigkeit dieser Vermuthung zu prüfen, wurden die Versuche angestellt, deren Resultate in der Tabelle A der Tab. V aufgezeichnet sind.

Dieselben bestanden darnach in zwei Reihen von Parallelkulturen, indem die Sporen eines Pilzes, welcher vier Generationen hindurch auf kupferhaltigem Nährboden — und zwar in den letzten beiden auf einer Concentration von 5 Litern — kultivirt war, einmal auf ein mit diesem völlig identisches Medium (Reihe 1), zum andern aber auf eine isotonische giffreie Nährlösung (Reihe 2) übertragen wurden.

War die Vermuthung richtig, so hätte — wie man erwarten musste — die Entwicklung solcher Sporen auf dem gleichen, kupferhaltigen Nährmedium nicht nur eine bessere als auf dem kupferfreien, sondern — im günstigsten Falle — hätte diejenige auf dem kupferfreien Medium gegenüber der Entwicklung „nicht accommodirter“ Sporen, also gegenüber den Sporen von einer giffreien Reinkultur, eine relativ schlechtere sein müssen. Diese Erwartung wurde aber, wie aus den Daten hervorgeht, getäuscht; vielmehr liess die schnellere und kräftigere Entwicklung solcher Sporen eines an Kupfer stark accommodirten Pilzes auf dem giffreien Nährmedium darauf schliessen, dass auch dieser Pilz die

natürlichen, normalen Verhältnisse bevorzugte, in welche er aus einem pathologischen Zustande zurückkehrte.

Nach dieser Schlussfolgerung war es naheliegend, dass ich bei der Frage nach der Dauer der durch Accommodation erworbenen Eigenschaft zu einer negativen Beantwortung würde gelangen müssen.

Ist die durch Anpassung erworbene Eigenschaft des Pilzes eine vorübergehende oder wird sie zu einer bleibenden, so dass man geneigt sein könnte, von einer Vererbung zu sprechen?

Durch die vorigen Versuche war zwar bewiesen, dass die Sporen eines an Kupfersulfat gewöhnten Pilzes dennoch das giftfreie Medium bevorzugten, andererseits aber ist in gleicher Weise die durch Accommodation gesteigerte Entwicklungsfähigkeit solcher Sporen auf demselben Giftmedium aus den früheren Versuchen deutlich erkennbar geworden. Da nun die eine Thatsache die andere nicht notwendigerweise ausschliesst, so war die Frage immerhin berechtigt, ob jene erworbene Eigenschaft solcher Sporen völlig erlischt, sobald dieselben, bezw. der daraus sich entwickelnde Pilz eine oder mehrere Generationen hindurch auf einem giftfreien Nährmedium — das jene ja bevorzugten — kultiviert war, oder ob sie eine für immer bleibende, also „erblich“ geworden war.

Zwecks Beantwortung dieser Frage wurden zunächst die Sporen der in der Horizontalreihe 4 der Tab. VA verzeichneten Kultur, also von einem 5 Generationen hindurch an das Kupfersalz gewöhnten Pilze, für eine, zwei und drei Generationen auf einer mit der Kupfersulfatlösung von 5 Litern isotonischen, giftfreien Nährlösung kultiviert.

Die Sporen dieser so angestellten Kulturen wurden nun in der Reihenfolge, wie sie in der ersten Vertikalreihe der Tab. VB verzeichnet sind, neben denjenigen einer gewöhnlichen isotonischen Reinkultur — als Parallele — jeweils auf eine Kupfersulfatlösung von 5 Litern übertragen.

Da alle Lösungen mit der zu impfenden isotonisch waren, so konnte ein Zeitunterschied nur mit der erhaltenen Wirkung der vorher erfolgten Anpassung an das Gift in Zusammenhang gebracht werden. Wie aber die Daten dieser Tabellen beweisen, stellte sich nun heraus, dass der Pilz die durch Accommodation erworbene Eigenschaft grösserer Resistenz- und Entwicklungsfähigkeit für das

gleiche Medium annähernd in demselben Maasse verliert, wie sie gewonnen wurde: denn die Daten der Reihen 1 und 4 stimmen schon nahezu überein.

Unschwer konnte der Einwurf gemacht werden, dass nach einer etwa 100 bis 500 Generationen hindurch erfolgten Accommodation des Pilzes die Versuche sehr wohl andere und zwar im Sinne der Erbllichkeit günstigere Resultate ergeben würden. Mit gleichem Rechte aber kann man wohl als nicht ausgeschlossen annehmen, dass diese Fähigkeit dann bei entsprechender Entwöhnung nach ebenso viel Generationen wieder in gleicher Weise verloren würde. Diese Frage kann jedoch ohne die entsprechenden Versuche, zu deren Anstellung wegen der erforderlichen grossen Anzahl derselben die für die Gesamtarbeit bemessene Zeit nicht ausreichte, endgiltig nicht entschieden werden.

Im Anschluss an diese Resultate meiner gesammten Arbeiten hatte ich es mir nun noch zur Aufgabe gemacht, einige Versuche anzustellen, welche dem Ziele zusteuern, einen Einblick zu gewinnen in die Ursache dieser aussergewöhnlichen Fähigkeit der Schimmelpilze, insonderheit eines *Penicillium glaucum*, auf so hoch concentrirten bezw. so stark giftigen Metallsalzlösungen zu gedeihen. Die nächstliegende, für weitere Forschungen in diesem Sinne wohl maassgebende und daher wichtigste Frage betrifft dann wohl das Eindringen des Metallgütes in die Zelle¹⁾, bezw. die Aufnahme des Metalles in irgend einer Form.

Dieser Frage bin ich bestrebt gewesen, so weit es mir möglich war, durch die folgenden Versuche gerecht zu werden.

Dringt die CuSO_4 -Lösung in das Protoplasma des Pilzes ein, bezw. wird das Metall von dem Pilze aufgenommen?

Die Möglichkeit einer positiven Beantwortung dieser Frage konnte nach den reichhaltigen Erfahrungen über die Aufnahme mehr oder weniger giftiger Stoffe durch die Zelle nicht ohne weiteres für ausgeschlossen gelten.

Bei einem kurzen Ueberblick über die diesbezüglichen Arbeiten,

¹⁾ Pfeffer, Pflanzenphysiologie, I. Aufl., Bd. II „Gifte“: Physiolog. Untersuch. 1877, p. 142. — Kühne, Untersuch. über das Protoplasma 1864, p. 100.

wie ihn Pfeffer¹⁾ in seinem Abschnitt über die entbehrlichen Aschenbestandtheile der Pflanzen giebt, muss man die Resultate dahin zusammenfassen, dass mit wenigen Ausnahmen, die vielleicht nur auf das seltene Vorkommen des betreffenden Metalles in der oberen Erdschicht zurückzuführen sind, fast sämtliche Metalle in den Aschen phanerogamer Pflanzen in mehr oder weniger grossen Mengen gefunden worden sind.

Wie verhält sich nun *Penicillium glaucum* zu der Aufnahme solcher Metalle, bezw. zu dem Eindringen der Lösung solcher Metallsalze, von denen ich nur das Kupfersulfat einer genauen Untersuchung unterworfen habe, da wohl anzunehmen ist, dass bei den analogen Wachsthumsergebnissen auf den andern Metallsalzlösungen sich auch das Verhalten des Protoplasma im wesentlichen gleich gestalten wird?

Da es sich nun zunächst nur darum handelte festzustellen, ob eine Aufnahme des Metalles überhaupt stattfand, ohne Rücksicht auf die Form und den Ort, so musste der Nachweis als Aschenbestandtheil, den ich mittelst Schwefelwasserstoff anstellte, vorerst genügen. Um aber einen solchen auf diesem Wege zu ermöglichen, war es nothwendig, die auf Kupfersulfatlösung kultivirten Decken von den äusserlich anhaftenden Rückständen jener kupferhaltigen Nährlösung durch Abwaschen zu befreien. Da bei einem derartigen Waschen mit destillirtem Wasser in Folge des osmotischen Druckunterschiedes ein Absterben der Pilzzellen zu befürchten war, so musste zu diesem Zwecke eine indifferente Lösung verwendet werden — in diesem Falle wurde Salpeter dazu verwendet —, welche der ursprünglichen Kulturflüssigkeit mindestens isotonisch war.

Mit dieser Kalisalpeterlösung²⁾ wurde nun die vorher in Stücke gerissene Pilzdecke in einer Kochflasche so lange durch vorsichtiges Schütteln abgewaschen, bis die ablaufende Waschflüssigkeit auf Zusatz von Kaliumferrocyanidlösung eine Kupferreaction nicht mehr erkennen liess. Die abgewaschene Decke wurde sodann nach schnellem, möglichst vollständigem Ablauf der Waschflüssigkeit in einer tarirten Porzellanschale bei 100° C im Trockenschrank getrocknet, das Gewicht der Trockensubstanz festgestellt und diese

1) Pfeffer, Pflanzenphysiologie, II. Aufl. 1897, § 75.

2) Diese Salpeterlösung erhielt noch einen geringen Zusatz von Weinsäure, um das an der äusseren Gewebeschicht etwa gebildete Kupferoxyd zu lösen.

endlich unter Zusatz von chlorsaurem Kali und Salzsäure in einem Kolben gekocht. War die organische Substanz völlig zerstört, so filtrirte ich ab, wusch den Rückstand mittelst destillirten Wassers mehrfach nach und leitete in die vereinigten Filtrate nach entsprechendem Abstumpfen der Säure und Verjagen des freien Chlor Schwefelwasserstoff im Ueberschusse ein.

Der entstandene Niederschlag von CuS wurde in der üblichen Weise gewichtsanalytisch bestimmt.

Zwar konnte diese Trockensubstanz nicht ganz frei von Salpeter sein, der aus der Waschflüssigkeit stammte; denn wenn dieselbe auch nach Möglichkeit abließ, so enthielt dennoch das Adhäsions- und Imbibitionswasser einen Theil gelöst. Diese Mengen aber konnten nicht so gross sein, dass die Werthe für das Deckengewicht sich dadurch wesentlich verschieben mussten. Ich habe daher diesen Factor bei der Berechnung unberücksichtigt gelassen.

Dieser Kupfernachweis wurde nun für 6 Pilzdecken nacheinander geliefert, von denen 3 auf einer Kupfersulfatlösung von 2,5⁰/₀, die andern auf einer solchen von 6⁰/₀ gewachsen waren. Und zwar ergab die Analyse bei:

den ersten 3 Decken einen Durchschnittsgehalt von 0,017 CuS
für 6 Gramm Trockensubstanz,

den andern 3 Decken einen solchen von 0,02 CuS
für 8,5 Gramm Trockensubstanz.

Nimmt man für eine normale, frische Pilzdecke einen Wassergehalt von 80⁰/₀ an, so berechnen sich daraus:

0,017 CuS für 30,0 Frischsubstanz, d. h. 0,056⁰/₀,

0,02 CuS für 42,5 Frischsubstanz, d. h. 0,05⁰/₀.

Diese Resultate entsprachen aber den Erwartungen nicht; vielmehr bewiesen sie, dass, ganz abgesehen von einer etwaigen Aufnahme grösserer Mengen, auch ein Endosmiren der Salzlösung in ihrer vollen procentualen Stärke in das Protoplasma selbst, also isosmotisch wenigstens, nicht stattgefunden haben konnte. Denn wäre dies der Fall gewesen, so entsprächen dem obigen Wasserverlust von 24 Gramm bei einer 2,5 proc. Kupfersulfatlösung annähernd 0,5 Gramm CuSO_4 , d. h. ein Idealbefund von von 0,3 Gramm CuS gegenüber dem thatsächlichen von 0,017 Gramm, andererseits dem Wasserverlust von 34 Gramm bei einer 6 proc. Kupfersulfatlösung annähernd 2 Gramm CuSO_4 , d. h. ein Idealbefund von 1,2 Gramm CuS gegenüber dem thatsächlichen von 0,02 Gramm.

Im ersten Falle blieb der Realbefund also rund um das 20fache, im zweiten — obwohl es die concentrirteren Lösungen waren — sogar um das 60fache zurück. Ein isosmotisches Eindringen der Giftlösung schien demnach nicht stattgefunden zu haben; es wird der Pilz also die erforderliche Herstellung des osmotischen Gleichgewichtes mit dem äusseren Metallgift enthaltenden Nährmedium, wie vielfach bei Kulturen auf concentrirten Lösungen¹⁾, durch entsprechende Concentration der Lösungen im Innern der Zelle bewirkt haben. Ein Austreten des Kupfersalzes aus der lebenden Zelle — sofern das Metall überhaupt in einer löslichen und endosmirenden Form aufgenommen war — während des Waschprocesses musste aber mit Rücksicht auf die überisotonische Waschflüssigkeit und die zeitliche Kürze des Verfahrens als nahezu ausgeschlossen gelten.

Woher kam nun der Gehalt an Kupfer in den Aschen?

Wenn man vorläufig von der Möglichkeit einer thatsächlichen Aufnahme des Metalles bis zu einer begrenzten, kleinen Menge seitens des lebenden Protoplasma absieht — dieser Frage bin ich später näher getreten —, so waren drei Lösungen für diese Frage vorhanden.

Erstens konnte die Kupfersulfatlösung capillar, also mechanisch, so festgehalten sein, dass es mit Rücksicht auf das Leben der Pilzfäden unmöglich war, diese zwischen dem engen Gewebe derselben haftende Flüssigkeit gänzlich herauszuwaschen.

Zweitens aber konnte, wenn nicht die lebende, so doch die abgestorbene Zelle den Kupfergehalt veranlasst haben. Das Absterben einer grossen Anzahl von Zellen ist ja bei dieser Handhabung des Auswaschens durch wiederholtes Schütteln unvermeidlich, abgesehen davon, dass es theilweise auch während der Dauer der Kultur selbst aus verschiedenen Ursachen erfolgt sein konnte. Im Augenblicke des Absterbens aber, wenn vorher eine Permeabilität für das Kupfersalz nicht vorlag, dringt dieses in den Protoplasten ein und könnte hier sehr wohl, bevor eine völlige Coagulirung stattfindet, als Eiweissverbindung in geringer Menge fixirt werden²⁾.

1) Eschenhagen, Einfluss der Lösungen verschied. Concentrat. auf Schimmelpilze, 1890; vergl. auch Pfeffer, Pflanzenphysiologie, 1. Aufl., p. 115.

2) Loew, Giftwirkungen, p. 9.

Endlich aber konnte das Protoplasma mit Rücksicht auf seine Existenz organische Stoffe ausscheiden, welche durch Herstellung unlöslicher Verbindungen ein Endosmiren des Giftstoffes unmöglich machten. In diesem Falle konnten solche, der Plasmahaut äusserlich, mechanisch anhaftenden Rückständen in Folge ihrer Unlöslichkeit in der Waschflüssigkeit — obwohl diese mit Weinsäure angesäuert war — den Befund in der Asche wohl bewirkt haben.

Gestützt auf das Resultat der Analyse und diese Vermuthungen muss man zwar der Ansicht zuneigen, dass — ganz abgesehen von einem isosmotischen Eindringen der Lösung — selbst auch eine Aufnahme nennenswerther Mengen des Metalles nicht stattfindet. Damit war aber immerhin die Frage über die Aufnahme einer begrenzten kleinen Menge des Metalles im Protoplasten noch nicht entschieden.

Wenn eine solche stattfand, so musste zunächst vor allem eine Permeabilität der Plasmahaut für dieses Metallsalz vorliegen.

Nach den Versuchen von Klemm¹⁾ drang eine Kupfersulfatlösung bis zu 10% schnell und schadlos in die Vacuolen einiger phanerogamer Pflanzen ein, so dass es ihm gelang, diesen Vorgang mittelst eines Zusatzes von Ammoniaklösung durch Blaufärbung in den Protoplastenvacuolen mikrochemisch nachzuweisen. Wegen der unendlich geringen Menge des etwaigen Kupfersalzgehaltes in dem geringen Raume einer Vacuole der Pilzzelle ist es mir leider trotz wiederholter Versuche nicht gelungen, die Anwesenheit des Kupfers und damit das Endosmiren desselben in die Zelle weder durch Zusatz von Ammoniak- noch von Ferrokaliumcyanidlösung mikrochemisch unwiderlegbar nachzuweisen.

Durch die negativen Resultate auf diesem Wege habe ich mich schliesslich veranlasst gesehen, der Frage der Permeabilität der Plasmahaut einer Schimmelpilzzelle für das Kupfersulfat durch plasmolytische Versuche näher zu treten. Dies geschah in der Weise, dass nebeneinander parallel Zellen eines auf giftfreier Nährlösung kultivirten Pilzes einmal mittelst einer Kalisalpeterlösung, zum andern mittelst einer isotonischen äquimolekularen Kupfersulfatlösung, welchen beiden etwas Anilinblau beigefügt war, plasmolytirt wurden.

Die Plasmolyse trat bei beiden Versuchsreihen zu annähernd gleicher Zeit ein und ging bei der ersten nach etwa einer Stunde

1) Klemm, Desorganisation der Zelle.

völlig zurück. Bei der Plasmolyse mit der Kupfersulfatlösung aber war dieselbe auch nach 1 $\frac{1}{2}$ Stunde noch im allgemeinen deutlich erkennbar, jedoch nur an einer verhältnissmässig geringen Anzahl von Zellen, da die grössere Menge derselben durch die eingetretene Blaufärbung im Inneren das Absterben bezw. den schon eingetretenen Tod erkennen liess. Die analogen Versuche mit den Hyphen eines an Kupfersulfat accommodirten Pilzes ergaben die gleichen Resultate, es trat das Absterben nur entsprechend später ein.

Somit musste nach dem Ergebniss dieser Versuche die Permeabilität der Plasmahaut für dieses Gift¹⁾ mindestens in Frage gestellt werden, da die Plasmolyse der Zellen mit der Zeit hätte zurückgehen müssen, was der Thatsache nicht entsprach.

Wenn ich mich nun somit auf das negative Resultat meiner chemischen Analyse und die nachfolgenden Versuche stütze, so muss ich mein Urtheil dahin zusammenfassen, dass, da eine Aufnahme bis zum Gleichgewicht jedenfalls nicht stattfand, auch eine Aufnahme in leichter Weise ausgeschlossen war, denn sonst hätte sich im Laufe der Zeit das Gleichgewicht herstellen müssen. Da aber somit das Kupfer nicht oder nur in Spuren in den Protoplasten eindringt, so ist wohl anzunehmen, dass eben dadurch ganz wesentlich eine giftige Wirkung vermieden wird, welche grössere Mengen von eindringendem gelösten Kupfer wahrscheinlich hervorgerufen würden.

Olmedies ist es schon nöthig, dass die Plasmahaut durch die mit ihr in Berührung stehende Kupfersulfatlösung nicht geschädigt wird. Denn andernfalls wäre ein Eindringen des Kupfersalzes und damit die Vernichtung des Lebens unvermeidlich, wie es ja in andern Pflanzen¹⁾ der Fall ist, die aber ebenso wie dieser Schimmelpilz lehren, dass der Einfluss submaximaler Giftdosen überwindbar ist.

Schlussfolgerungen.

Die Ergebnisse meiner gesammten Arbeit kann ich kurz dahin zusammenfassen:

1. Die Concentrationsgrenzen für das Wachsthum der untersuchten Schimmelpilze — *Mucor mucedo*, *Aspergillus niger*, *Botrytis*

1. Pfeffer, Pflanzenphysiologie, I. Aufl., Bd. I, p. 13. 2. „Die osmot. Eigenschaften d. Zelle“; Bd. II, p. 151.

cinerea und *Penicillium glaucum* — auf Metallgift enthaltenden Nährböden liegen je nach der Empfindlichkeit der Individuen für die ersten drei sehr tief, für *Penicillium glaucum* sehr hoch.

2. Die Einwirkung der einzelnen Metalle steht im Zusammenhange mit dem elektrolytischen Verhalten der betreffenden Lösung; und zwar ist sie abhängig von der physiologischen Wirkung des undissociirten Theiles des Salzes und der beteiligten Mitwirkung des Kation.

3. Die Schimmelpilze sind in verschiedenem Grade accommodationsfähig; in sehr hohem Maasse *Penicillium glaucum*, wo schon das Individuum selbst ohne Wechsel der Generationen mit der Länge der Zeit einen hohen Grad der Resistenz erwirbt.

4. In Folge dieser Accommodationsfähigkeit sind jene Wachstumsgrenzen keine feststehenden, also keine unbedingten; vielmehr lassen sie sich durch allmähliche Anpassung erweitern, und zwar ist diese Erweiterung von der Anzahl der Generationen abhängig.

5. Die günstigste Wirkung der Accommodation wird durch eine stufenweise, parallel zur Anzahl der Generationen erfolgende Steigerung des Metallgiftgehaltes erreicht.

6. Ob eine solche, durch Gewöhnung erworbene Eigenschaft zu einer dauernden wird bezw. werden kann, so dass man geneigt sein könnte, von einer Vererbung und einem bleibend veränderten Zustand der Art zu sprechen, diese Frage liess sich in dem zur Beobachtung benutzten Zeitraume nicht eruiiren; nach den gemachten Erfahrungen aber muss man einer negativen Beantwortung zu-neigen.

7. Das Kupfer wird von *Penicillium* nicht oder wenigstens nicht in wesentlicher Menge aufgenommen, da für diesen Pilz eine Impermeabilität der Plasmahaut gegenüber diesem Metallsalze vor-zuliegen scheint.

8. Die Anpassung des Pilzes und damit die Entwickelungs-fähigkeit desselben auf einer solchen Metallgiftlösung wird so lange möglich sein, als die Plasmahaut durch die Berührung mit dem Giftstoff nicht geschädigt wird, wodurch die letale Dosis erreicht sein würde.

Vorliegende Untersuchungen wurden im botanischen Institute der Universität Leipzig während des Wintersemesters 1898 99 und

der beiden darauf folgenden Semester ausgeführt, und ich möchte es nicht versäumen, auch an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrath Prof. Dr. W. Pfeffer, für die freundliche Leitung und stete Förderung meiner Studien meinen ehrerbietigsten Dank auszusprechen. ---

Tabelle I.*Penicillium glaucum.*

CuSO ₄ - Mole-Gew. = 159,3.		- 5 H ₂ O - Mole-Gew. = 249,3				
Procentgehalt		Anzahl d. Fäuln. in denen 1 Ggr. = Mol. gelöst ist	Pilzsporen von	Sichtbare	Keimung	Fructification
Cu	5 H ₂ O			Keimung	Keimung	Keimung
0,003	0,0124	2000	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 5 Tagen
0,03	0,124	200		" 8 "	" 14 "	" 21 "
0,3	1,24	20		" 11 "	" 21 "	" 2 Monat
0,6	2,5	10		" 21 "	" 2 Monat	" 3 "
1,3	5	5		" 21 "	" 2 "	" 3 "
3,2	12,5	2		" 21 "	" 2 "	" 3 "
6,3	25	1		" 1 Monat	" 3-4 "	" 4 "
8,3	33	0,750		" 1 "	" 5 "	" 5 "

Aspergillus niger.

0,0003	0,00124	20000	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 6 Tagen
0,003	0,0124	2000		" 5 "	" 8 "	" 11 "
0,006	0,025	1000		0		

Mucor mucedo.

0,0003	0,00124	20000	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 8 Tagen
0,003	0,0124	2000		" 8 "	" 10 "	0
0,006	0,025	1000		0		

Botrytis cinerea.

0,0003	0,00124	20000	Reinkultur	nach 1 Tag	nach 3 Tagen	nach 5 Tagen
0,003	0,0124	2000		" 5 Tagen	" 8 "	" 11 "
0,006	0,025	1000		0		

Penicillium glaucum.

CuC ₄ H ₄ O ₆		Mol.-Gew.	211,5	in NaOH gelöst + Weinsäure.		
Procentgehalt				Sichtbare	Decke	Fructification
Cu	CuC ₄ H ₄ O ₆	Anzahl d. Teilg. in denen 1 Ggr. Mol. gelöst ist	Pilzsporen von	Keimung		
0,6	2	10	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 5 Tagen	nach 8 Tagen
1,3	4	5		" 2 "	" 5 "	" 8 "
3,2	10,5	2		" 4 "	" 8 "	" 24 "
6,3	21	1		" 5 "	" 10 "	" 28 "

Aspergillus niger.

0,06	0,2	100	Reinkultur	nach 1 Tag	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen
0,6	2	10		" 3 Tagen	" 5 "	" 5 "
1,3	4	5		0		

Mucor mucedo.

0,006	0,02	1000	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 5 Tagen
0,03	0,1	200		" 44 "	0	
0,06	0,2	100		0		

Botrytis cinerea.

0,06	0,2	100	Reinkultur	nach 1 Tag	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen
0,6	2	10		" 3 Tagen	" 5 "	" 7 "
1,3	4	5		0		

Penicillium glaucum.

ZnSO ₄		Mol.-Gew.	161	+ 7 H ₂ O Mol.-Gew. 287		
Procentgehalt				Sichtbare	Decke	Fructification
Zn	ZnSO ₄ + 7 H ₂ O	Anzahl d. Teilg. in denen 1 Ggr. Mol. gelöst ist	Pilzsporen von	Keimung		
0,003	0,015	2000	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen
0,03	0,15	200		" 5 "	" 8 "	" 10 "
0,3	1,5	20		" 8 "	" 10 "	" 11 "
0,65	2,87	10		" 8 "	" 21 "	" 5 Woch.
1,3	5,7	5		" 8 "	" 24 "	" 5 "
3,2	14,35	2		" 8 "	" 24 "	" 5 "
6,5	28,7	1		" 4 Wochen	" 6 Woch.	" 7 "
8,7	38	0,750		" 2 Monat	" 3 Monat	" 3 Monat

Aspergillus niger.

ZnSO ₄ Mol.-Gew. 161.		+ 7 H ₂ O Mol.-Gew. 287.				
Procentgehalt	ZnSO ₄	Anzahl d. Lifs. in einem 1 Gr. Mol. gebest ist	Pilzsporen von	Sichtbare	Decke	Fructification
Zn	+ 7 H ₂ O			Keimung		
0,003	0,015	2000	Reinkultur	nach 1 Tag	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen
0,03	0,15	200		" 5 Tagen	" 8 "	" 11 "
0,07	0,3	100		0		

Mucor mucedo.

0,0003	0,0015	20000	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 8 Tagen
0,003	0,015	2000		" 5 "	" 10 "	0
0,007	0,03	1000		0		

Botrytis cinerea.

0,0003	0,0015	20000	Reinkultur	nach 1 Tag	nach 3 Tagen	nach 5 Tagen
0,003	0,015	2000		" 3 Tagen	" 5 "	" 8 "
0,03	0,15	200		" 8 "	" 14 "	" 21 "
0,07	0,3	100		0		

Penicillium glaucum.

NiSO ₄ Mol.-Gew. 154,7.		+ 6 H ₂ O Mol.-Gew. 262,7.				
Procentgehalt	NiSO ₄	Anzahl d. Lifs. in einem 1 Gr. Mol. gebest ist	Pilzsporen von	Sichtbare	Decke	Fructification
Ni	+ 6 H ₂ O			Keimung		
0,003	0,013	2000	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 8 Tagen
0,03	0,13	200		" 4 "	" 8 "	" 21 "
0,3	1,31	20		" 21 "	" 2 Monat	" 2 1/2 Mon.
0,6	2,62	10		" 2 Monat	" 1 "	" 6 Monat
1,2	5,25	5		0		
2,9	13,13	2		0		

Aspergillus niger.

0,0003	0,0013	20000	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 8 Tagen
0,003	0,013	2000		" 8 "	" 10 "	" 21 "
0,006	0,026	1000		0		

Mucor mucedo.

NiSO ₄ , Mol.-Gew. = 154,7.		+ 6 H ₂ O, Mol.-Gew. = 262,7.				
Procentgehalt		Anzahl d. Lit. in denen 1 Gr.-Mol. gelöst ist	Pilzsporen von	Sichtbare	Decke	Fructification
Ni	NiSO ₄ + 6 H ₂ O			Keimung		
0,0003	0,0013	20 000	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 8 Tagen
0,003	0,013	2 000		" 8 "	" 10 "	" 0 "
0,006	0,026	1 000		0		

Botrytis cinerea.

0,0003		0,0013		20 000 <th colspan="3"></th>				
0,003		0,013		2 000 <th colspan="3"></th>				
0,006		0,026		1 000 <th colspan="3"></th>				
			Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 6 Tagen		
				" 5 "	" 10 "	" 14 "		
				0				

Penicillium glaucum.

MnSO ₄ , Mol.-Gew. = 151.		+ 5 H ₂ O, Mol.-Gew. = 241.				
Procentgehalt		Anzahl d. Lit. in denen 1 Gr.-Mol. gelöst ist	Pilzsporen von	Sichtbare	Decke	Fructification
Mn	MnSO ₄ + 5 H ₂ O			Keimung		
0,055	0,24	200	Reinkultur	nach 1 Tag	nach 5 Tagen	nach 8 Tagen
0,545	2,4	10				
1,1	4,8	5		nach 4 Tagen	nach 8 Tagen	
2,78	12	2				
5,45	24	1		" 4 "	" 8 "	
7,28	32	0,750		" 5 "	" 8 "	
13,6	60	0,400	" 10 "	nach 47 Tagen	nach 25 Tagen	

Penicillium glaucum.

Fe ₂ (SO ₄) ₃ , Mol.-Gew. = 400.		+ 10 H ₂ O, Mol.-Gew. = 580.				
Procentgehalt		Anzahl d. Lit. in denen 1 Gr.-Mol. gelöst ist	Pilzsporen von	Sichtbare	Decke	Fructification
Fe	Fe ₂ (SO ₄) ₃ + 10 H ₂ O			Keimung		
0,29	3	20	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 10 Tagen	nach 16 Tagen
0,56	5,8	10		" 3 "	" 21 "	" 24 "
1,12	11,6	5		" 3 "	" 30 "	" 35 "
1,4	14,5	4		0		

Penicillium glaucum.

CdSO ₄ Mol.-Gew. 208,		+ 4 H ₂ O Mol.-Gew. 280,				
Procentgehalt		Anzahl d. Leb. in denen 1 Grm. Mol. gelöst ist	Pflzsporen von	Sichtbare	Decke	Fructification
Cd				Keimung		
0,006	0,014	2000	Reinkultur	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 8 Tagen
0,056	0,14	200		" 3 "	" 6 "	" 21 "
0,112	0,28	100		" 21 "	" 24 "	" 35 "
0,22	0,56	50		0		

Penicillium glaucum.

CoSO ₄ Mol.-Gew. 154,74,		+ 7 H ₂ O Mol.-Gew. 280,74,				
Procentgehalt		Anzahl d. Leb. in denen 1 Grm. Mol. gelöst ist	Pflzsporen von	Sichtbare	Decke	Fructification
Co				Keimung		
0,003	0,014	2000	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen
0,03	0,14	200		" 3 "	" 7 "	" 7 "
0,06	0,28	100		" 5 "	" 21 "	" 28 "
0,12	0,56	50		0		

Penicillium glaucum.

Pb(NO ₃) ₂ Mol.-Gew. 330,						
Procentgehalt		Anzahl d. Leb. in denen 1 Grm. Mol. gelöst ist	Pflzsporen von	Sichtbare	Decke	Fructification
Pb				Keimung		
0,01	0,016	2000	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 4 Tagen
0,1	0,165	200		4 "	9 "	8 "
1,03	1,65	20		14 "	von unbedingtem H ₂ O	
2,06	3,3	10		14 "		
4,1	6,6	5		21 "		
6,8	11	3		0		

*Penicillium glaucum.*Ti₂SO₄ Mol.-Gew. = 504.

Procentgehalt		Anzahl d. Lit. in denen 1 Gr. Mol. gelöst ist	Pilzsporen von	Sichtbare	D e c k e	Fruetification
Ti	Ti ₂ SO ₄			Keimung		
0,002	0,005	10 000	Reinkultur	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 5 Tagen
0,004	0,01	5 000		" 8 "	" 14 "	0
0,01	0,025	2 000		" 24 "	" 30 "	0
0,02	0,05	1 000		0		

*Penicillium glaucum.*HgCl₂ Mol.-Gew. = 252.

Procentgehalt		Anzahl d. Lit. in denen 1 Gr. Mol. gelöst ist	Pilzsporen von	Sichtbare	D e c k e	Fruetification
Hg	HgCl ₂			Keimung		
0,001	0,00126	20 000	Reinkultur	nach 1 Tag	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen
0,002	0,0025	10 000		" 4 "	" 4 "	" 7 "
0,01	0,0126	2 000		" 3 Tagen	" 14 "	" 16 "
0,02	0,025	1 000		" 3 "	" 21 "	" 28 "
0,04	0,05	500		" 14 "	" 25 "	" 28 "
0,1	0,126	200		0		

*Penicillium glaucum.*HgCl₂ Mol.-Gew. = 271.

Procentgehalt		Anzahl d. Lit. in denen 1 Gr. Mol. gelöst ist	Pilzsporen von	Sichtbare	D e c k e	Fruetification
Hg	HgCl ₂			Keimung		
0,001	0,00135	20 000	Reinkultur	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen	nach 6 Tagen
0,002	0,0027	10 000		" 3 "	" 4 "	" 7 "
0,01	0,0135	2 000		" 1 Woch.	" 6 Woch.	" 8 Woch.
0,02	0,027	1 000		0		

Tabelle II.*Penicillium glaucum.*

	Anz d. Lit., in denen 1 Gr.-Molek. gelöst ist	Pilz- sporen von	Sichtbare Keimung	Decke	Fructification
CuSO_4	200	2000	nach 1 Tag	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen
"	10	200 2000	" 8 Tagen	" 10 "	" 14 "
"		200	" 10 "	" 16 "	" 18 "
"	5	10 200 2000	" 3 "	" 10 "	" 14 "
"		200	" 16 "	" 21 "	" 28 "
"	2	5 10 200 2000	" 5 "	" 21 "	" 21 "
"	1	2 5 10 200 2000	" 5 "	" 21 "	" 24 "
ZnSO_4	5	200	nach 8 Tagen	nach 21 Tagen	nach 35 Tagen
"	2	5 200	" 2 "	" 3 "	" 10 "
HgCl_2	200	500	nach 3 Tagen	nach 10 Tagen	nach 10 Tagen
"	50	200 500	" 8 "	" 14 "	" 14 "
"		500	0		
"	20	50 200 500	0		
NiSO_4	200	2000	nach 6 Tagen	nach 14 Tagen	nach 21 Tagen
"	10	200 2000	nach 3 Monaten	nach 4 Monaten	nach 4 Monaten
"		200	0		

Penicillium glaucum.

	Anz. d. Lit., in denen 1 Gg.-Molek. gelöst ist	Pilz- sporen von	Sichtbare Keimung	Decke	Erntefication
NiSO ₄	5	10	nach 3 Tagen	nach 14 Tagen	nach 14 Tagen
		200			
		2000			
..	2	200	nach 3 Tagen	nach 7 Tagen	nach 21 Tagen
		5			
		10			
..	1	2	" 6 "	" 14 "	0
		5			
		10			
MnSO ₄	0,750	2	nach 2 Tagen	nach 5 Tagen	nach 6 Tagen
		0,750	" 8 "	" 14 "	" 21 "
		2	" 8 "	" 14 "	" 24 "
H ₂ SO ₄	5000	10000	nach 2 Tagen	nach 6 Tagen	nach 7 Tagen
		5000	" 2 "	" 10 "	" 10 "
		10000	" 4 "	" 11 "	" 14 "
..	1000	1000	" 4 "	" 11 "	" 14 "
		5000			
		10000			
..	500	1000	0	" 11 "	" 14 "
		5000			
		10000			
CdSO ₄	200	2000	nach 12 Tagen	nach 17 Tagen	nach 28 Tagen
		200	" 8 "	" 14 "	" 14 "
		2000	" 21 "	" 24 "	" 28 "
..	20	50	" 8 "	" 15 "	0
		200			
		2000			
..	10	200	" 8 "	" 15 "	0
		50			
		200			

Penicillium glaucum.

	Anz. d. Lit., in denen 1 Gr.-Molek. gelöst ist	Pilz- sporen von	Sichtbare Keimung	Decke	Fructification
CdSO_4	5	50 200 2000	0		
$\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 3$	5	10	nach 4 Tagen	nach 26 Tagen	nach 26 Tagen
..		5	.. 4 30 30 ..
..		10			
..		5			
..	4	5	0		
..		10			
HgCl_2	2000	10000	nach 8 Tagen	nach 13 Tagen	nach 13 Tagen
..	1000	2000 10000	0		
$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	200	2000	nach 4 Tagen	nach 6 Tagen	nach 8 Tagen
..		200			
..	20	200	.. 14 ..	0	
..		2000			
..		200			
..	10	200	.. 14 ..	0	
..		2000			
..		200			
..	5	200	.. 14 ..	0	
..		2000			
..		200			
..	3	200	0		
..		2000			
CuSO_4	200	2000	nach 14 Tagen	nach 19 Tagen	nach 29 Tagen
..		200			
..	50	2000	.. 5 11 11 ..
..		200	.. 28 35 ..	0
..		50			
..	20	200	0		
..		2000			

Tabelle III.

Penicillium glaucum.

	Anz. d. Lit., in denen 1 Gr.-Molek. enthalten ist	Pilz- sporen von	Sichtbare Keimung	Decke	Fruchtification
CuSO_4	5	ZnSO_4 5 Liter	nach 4 Tagen	nach 5 Tagen	nach 10 Tagen
..	5	NiSO_4 5 Liter	.. 24 30 30 ..
..	5	CuSO_4 5 Liter	.. 3 10 14 ..
..	5	Rein- kultur	.. 21 ..	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten
NiSO_4	5	CuSO_4 5 Liter	0		
..	5	ZnSO_4 5 Liter	0		
..	10	CuSO_4 5 Liter	nach 21 Tagen	nach 3 $\frac{1}{2}$ Monaten	nach 5 Monaten
..	10	ZnSO_4 5 Liter	.. 21 4 5 ..
..	5	NiSO_4 5 Liter	.. 3 14 Tagen	.. 14 Tagen
..	10	Rein- kultur	nach 2 Monaten	nach 4 Monaten	nach 6 Monaten
ZnSO_4	5	CuSO_4 5 Liter	nach 4 Tagen	nach 10 Tagen	nach 21 Tagen
..	5	NiSO_4 5 Liter	.. 6 21 28 ..
..	5	ZnSO_4 5 Liter	.. 2 3 8 ..
..	5	Rein- kultur	.. 8 21 35 ..
CdSO_4	10	CuSO_4 5 Liter	nach 21 Tagen	nach 28 Tagen	nach 35 Tagen

Penicillium glaucum.

	Anz. d. Lit., in denen 1 Gr. Molek. enthalten ist	Pilz- sporen von	Sichtbare Keimung	D e c k e	Fruetification
CdSO_4	10	ZnSO_4 5 Liter	nach 11 Tagen	nach 21 Tagen	.. 21 ..
..	50	NiSO_4 5 Liter	0		
..	10	CdSO_4 50 Lit.	.. 8 15 ..	0
..	50	Rein- kultur	0		
Hg_2Cy_2	200	CuSO_4 5 Liter	nach 6 Tagen	nach 14 Tagen	nach 30 Tagen
..	200	ZnSO_4 5 Liter	.. 10 14 30 ..
..	200	NiSO_4 5 Liter	0		
..	200	Rein- kultur	0		
..	500 14 25 28 ..
..	50	CuSO_4 5 Liter	0		
..	50	ZnSO_4 5 Liter	0		
..	50	Hg_2Cy_2 200 Lit.	.. 8 14 14 ..
CoSO_4	50	CuSO_4 5 Liter	0		
..	50	ZnSO_4 5 Liter	0		
..	50	NiSO_4 5 Liter	0		
..	50	CoSO_4 200 Lit.	nach 5 Tagen	nach 11 Tagen	nach 11 Tagen
..	50	Rein- kultur	0		

Tabelle IV.*Penicillium glaucum.*

	Nährmedien, welchen der Reihenfolge nach die Generationen der verschiedenen Pilzsporen entstammen 1)	Concentrationsstufen d. CuSO_4 haltigen Nährmedien (in Litern), auf welche die Pilzsporen übertragen wurden	Sichtbare	Decke	Fruchtification
			Keimung		
1	200 Liter Reinkultur	5 (isot. 2 Lit.)	nach 14 Tagen	nach 21 Tagen	nach 28 Tagen
2	200 Liter	5 (isot. 2 Lit.)	.. 3 21 21 ..
	200 ..				
	200 ..				
	200 ..				
3	10 ..	5 (isot. 2 Lit.)	.. 2 10 21 ..
	200 ..				
4	5 ..	5 (isot. 2 Lit.)	.. 2 4 21 ..
	10 ..				
	200 ..				
5	200 Liter Reinkultur	2	.. 8 21 25 ..
6	200 Liter	2	.. 5 21 21 ..
	200 ..				
	200 ..				
	200 ..				
7	5 ..	2	.. 2 10 21 ..
	200 ..				
8	2 ..	2	.. 2 5 21 ..
	5 ..				
	200 ..				

1) Sämmtliche Kulturen sind isotonisch 2 Liter.

Tabelle V.*Penicillium glaucum.***A.**

	Concentrationsstärke d. CuSO_4 -Kultur, welcher die Sporen entstammen	Nährmedium, auf welches diese Sporen übertragen wurden	Sichtbare Keimung	Decke	Fructification
1	5 Liter ¹⁾	CuSO_4 5 Liter	nach 2 Tagen	nach 5 Tagen	nach 10 Tagen
2	5 Liter ¹⁾	isotonische Nährlösung	„ 1—2 „	„ 3 „	„ 5 „

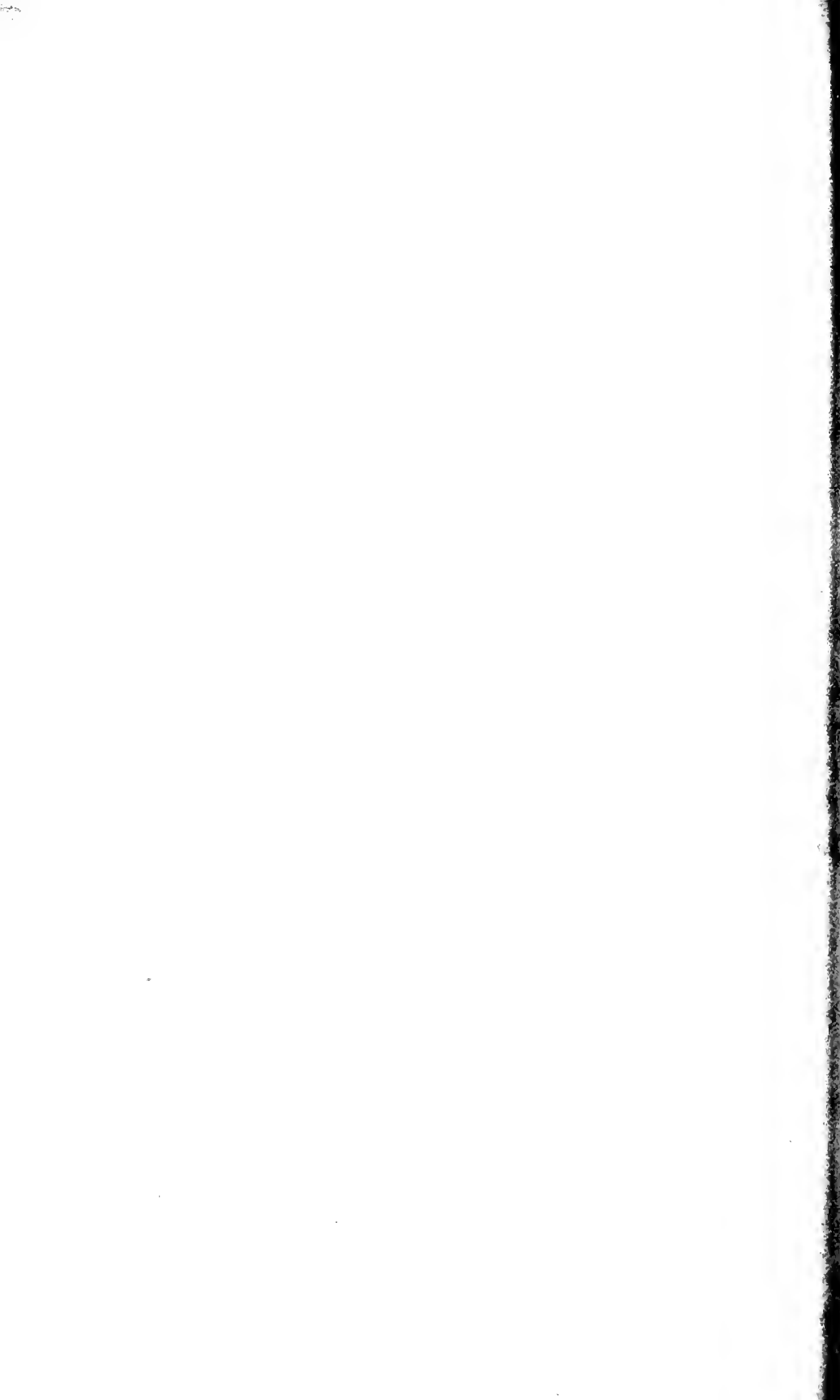
B.

	Nährmedium, welchen der Reihenfolge nach die Generationen der verwendeten Pilzsporen entstammen ²⁾	Concentrationsstärke d. CuSO_4 haltigen Nährmedium (in Liter), auf welche die Pilzsporen übertragen wurden	Sichtbare Keimung	Decke	Fructification
1	Reinkultur	5	nach 21 Tagen	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten
2	Reinkultur CuSO_4 5 Liter	5	„ 10 „	nach 21 Tagen	nach 24 Tagen
3	Reinkultur Reinkultur CuSO_4 5 Liter	5	„ 14 „	„ 30 „	„ 40 „
4	Reinkultur Reinkultur Reinkultur CuSO_4 5 Liter	5	„ 20 „	nach 2 Monaten	nach 2 $\frac{1}{2}$ Monaten

1) Diese hier verwendeten Sporen sind den in Tab. IV, 4 angegebenen Kulturen entnommen.

2) Sämtliche Reinkulturen waren mit einer CuSO_4 -Lösung 5 Liter isotonisch.







New York Botanical Garden Library

QK601 .P82
Pulst, Carl Wilhelm/Die Widerstandsfähig

gen



3 5185 00124 6600

